

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001年4月12日 (12.04.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/25447 A1

- (51) 国際特許分類: C12N 15/60, 15/54, 15/53, 15/31, 15/56, 9/88, 9/12, 9/04, C07K 14/34, C12N 9/26, C12P 13/04
- (21) 国際出願番号: PCT/JP00/06913
- (22) 国際出願日: 2000年10月4日 (04.10.2000)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願平11/282716 1999年10月4日 (04.10.1999) JP
特願平11/311147 1999年11月1日 (01.11.1999) JP
特願2000/120687 2000年4月21日 (21.04.2000) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 味の素株式会社 (AJINOMOTO CO., INC.) [JP/JP]; 〒104-8315 東京都中央区京橋一丁目15番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 平野聖子 (HIRANO, Seiko) [JP/JP]. 野中 源 (NONAKA, Gen) [JP/JP]. 松崎友美 (MATSUZAKI, Yumi) [JP/JP]. 秋好直樹 (AKIYOSHI, Naoki) [JP/JP]. 中村佳苗 (NAKAMURA, Kanae) [JP/JP]. 木村英一郎 (KIMURA, Eiichiro) [JP/JP]. 大住 剛 (OSUMI, Tsuyoshi) [JP/JP]. 松井和彦 (MATSUI, Kazuhiko) [JP/JP]. 河原義雄 (KAWAHARA, Yoshio) [JP/JP]. 倉橋 修 (KURAHASHI, Osamu) [JP/JP]. 中松 亘 (NAKAMATSU, Tsuyoshi) [JP/JP]. 杉本慎一 (SUGIMOTO, Shinichi) [JP/JP]; 〒210-8681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社 発酵技術研究所内 Kanagawa (JP).
- (74) 代理人: 遠山 勉, 外 (TOYAMA, Tsutomu et al.); 〒103-0004 東京都中央区東日本橋3丁目4番10号 ヨコヤマビル6階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,

[続葉有]

(54) Title: THERMOPHILIC AMINO ACID BIOSYNTHESIS SYSTEM ENZYME GENE OF THERMOTOLERANT CORYNEFORM BACTERIUM

(54) 発明の名称: 高温耐性コリネ型細菌の耐熱性アミノ酸生合成系酵素遺伝子

(57) Abstract: PCR is effected by using chromosomal DNA of *Corynebacterium thermoaminogenes* as a template with plural primer pairs designed on the basis of domains conserved at the amino acid level among known gene sequences of various microorganisms corresponding to genes encoding L-amino acid biosynthesis system enzymes originating in *Corynebacterium thermoaminogenes* (preferably enzymes acting at higher temperatures than *Corynebacterium glutamicum* does). By using primers providing amplified fragments as screening primers, clones containing the target DNA fragments are selected from a *Corynebacterium thermoaminogenes* chromosomal DNA plasmid library.

(57) 要約:

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス由来のL-アミノ酸生合成系酵素、好ましくはコリネバクテリウム・グルタミカムよりも高い温度で機能する酵素をコードする遺伝子に対応する種々の微生物の既知の遺伝子配列の間でアミノ酸レベルで保存されている領域に基づいて設計した複数組のプライマーとして、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの染色体DNAを鋳型としてPCRを行い、増幅断片が得られたプライマーをスクリーニング用プライマーに用いて、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの染色体DNAのプラスミドライブラリーから、目的とするDNA断片を含むクローンを選択する。

WO 01/25447 A1



DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,

LU, MC, NL, PT, SE), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明細書

高温耐性コリネ型細菌の耐熱性アミノ酸生合成系酵素遺伝子

技術分野

本発明は、高温耐性コリネ型細菌であるコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの耐熱性酵素遺伝子、特にL-グルタミン酸等のL-アミノ酸生合成系酵素及び取り込み系遺伝子に関する。

背景技術

現在、L-グルタミン酸等のL-アミノ酸の製造は、コリネ型細菌による発酵生産が主流となっている。アミノ酸の発酵生産は、生産能に優れた菌株の育種や発酵技術の開発によって、コストダウンが図られている。従来、コストダウン実現の方向性は、高収率化が主なものであるが、発酵におけるコストとしては、原料以外にも培養中に発生する発酵熱の冷却エネルギーを無視することはできない。すなわち、発酵に用いられている通常の微生物は、発酵中に自らが発生する発酵熱により培地の温度が上昇し、発酵に必要な酵素が失活したり生産菌が死滅したりするために、発酵中に培地を冷却することが必要となっている。したがって、冷却費用を低減するために、高温での発酵に関する検討が古くから行われている。また、高温で発酵を行うことが可能となれば、反応速度を向上させることができる可能性もある。しかし、これまでのところ、L-アミノ酸発酵において、有効な高温培養は実現していない。

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス (*Corynebacterium thermoaminogenes*) は、L-アミノ酸の発酵に汎用されているコリネバクテリウム・グルタミカム (*Corynebacterium glutamicum*) (ブレビバクテリウム・ラクトファーメントム (*Brevibacterium lactofermentum*)) 等と同様にコリネ型細菌に分類される細菌であるが、生育至適温度はコリネバクテリウム・グルタミカムの30~35℃に対して37~43℃と高く、L-グルタミン酸生成の至適温度も42~45℃とかなり高温側にシフトしている (特開昭63-240779号)。

ところで、コリネバクテリウム属またはプレビバクテリウム属細菌において、エシェリヒア・コリ又はコリネバクテリウム・グルタミカム由来のL-アミノ酸合成系酵素をコードする遺伝子を導入することにより、同L-アミノ酸の生産能を増強する技術が開発されている。例えば、このような酵素として、例えば、L-グルタミン酸生合成系酵素であるクエン酸シンターゼ（特公平7-121228号）、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ（特開昭61-268185号）、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ、アコニット酸ヒドラターゼ遺伝子（特開昭63-214189号）等がある。

しかし、高温耐性のコリネ型細菌由来のL-アミノ酸生合成酵素及びそれらをコードする遺伝子は報告されていない。

発明の開示

本発明は、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス由来の酵素、好ましくはコリネバクテリウム・グルタミカムよりも高い温度で機能する酵素をコードする遺伝子を提供することを課題とする。

本発明者は、上記課題を解決するために鋭意検討を行った結果、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスのアミノ酸生合成系酵素をコードする遺伝子、又はアミノ酸の細胞内への取り込みに関与するタンパク質をコードする遺伝子を単離することに成功し、本発明を完成するに至った。

すなわち本発明は、以下のとおりである。

（１）配列番号２に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、１若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、50℃、5分の熱処理後に30%以上の残存活性を有するイソシトレートリアーゼ活性を有するタンパク質。

（２）配列番号４に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、１若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するアシルCoAカルボキシラーゼ活性に関与するタンパク質。

（３）配列番号６に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、１若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位

を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来する D t s R 活性を有するタンパク質。

(4) 配列番号 8 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来する D t s R 活性を有するタンパク質。

(5) 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、60℃で30℃における活性と同等又はそれ以上のホスホフルクトキナーゼ活性を有するタンパク質。

(6) 配列番号 94 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスにシュークロース資化能を付与する活性を有するタンパク質。

(7) 配列番号 17～20 に記載のアミノ酸配列のいずれかを有するタンパク質、又は、前記アミノ酸配列のいずれかにおいて、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するグルタミン酸の取り込みに関与する機能を有するタンパク質。

(8) 配列番号 22 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するビルビン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

(9) 配列番号 24 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するビルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質。

(10) 配列番号 26 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は

逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、45℃、5分の熱処理後に50%以上の残存活性を有するホスホエノールビルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質。

(11) 配列番号28に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、50℃、3分の熱処理後に30%以上の残存活性を有するアコニターゼ活性を有するタンパク質。

(12) 配列番号30に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、45℃、10分の熱処理後に50%以上の残存活性を有するイソクエン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

(13) 配列番号32に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するジヒドロリボアミドデヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

(14) 配列番号34に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、50℃、10分の熱処理後に30%以上の残存活性を有する2-オキシグルタル酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

(15) 配列表の配列番号80に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、42℃で37℃における活性と同等又はそれ以上のグルタミン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

(16) 配列表の配列番号90に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、37℃で23℃における活性と同等又はそれ以上のクエン酸シンターゼ活性を有するタンパク質。

(17) 配列番号2に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ

酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、イソシトレートリアーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(18) 下記(a1)又は(b1)に示すDNAである(17)のDNA。

(a1) 配列表の配列番号1に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b1) 配列表の配列番号1に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、イソシトレートリアーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(19) 配列番号4に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、アシルCo-Aカルボキシラーゼ活性に関与するタンパク質をコードするDNA。

(20) 下記(a2)又は(b2)に示すDNAである(19)のDNA。

(a2) 配列表の配列番号3に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b2) 配列表の配列番号3に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、アシルCo-Aカルボキシラーゼ活性に関与するタンパク質をコードするDNA。

(21) 配列番号6に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、DtsR活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(22) 下記(a3)又は(b3)に示すDNAである(21)のDNA。

(a3) 配列表の配列番号5に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b3) 配列表の配列番号5に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、DtsR活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(23) 配列番号8に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、DtsR活性を有するタンパク質をコー

ドするDNA。

(24) 下記(a4)又は(b4)に示すDNAである(23)のDNA。

(a4) 配列表の配列番号7に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b4) 配列表の配列番号7に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、DtsR活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(25) 配列番号10に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ホスホフルクトキナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(26) 下記(a5)又は(b5)に示すDNAである(25)のDNA。

(a5) 配列表の配列番号9に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b5) 配列表の配列番号9に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ホスホフルクトキナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(27) 配列番号93に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、インベルターゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(28) 下記(a6)又は(b6)に示すDNAである(27)のDNA。

(a6) 配列表の配列番号93に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b6) 配列表の配列番号93に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、インベルターゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(29) 配列番号17～20に記載のアミノ酸配列のいずれかを有するタンパク質、又は、前記アミノ酸配列のいずれかにおいて、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、グルタミン酸の取り込みに関与する機能を有するタンパク質、をコードするDNA。

(30) 下記 (a 7) 又は (b 7) に示す DNA である (29) の DNA。

(a 7) 配列表の配列番号 16 に記載の塩基配列からなる塩基配列を含む DNA。

(b 7) 配列表の配列番号 16 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、グルタミン酸の取り込みに関与する機能を有するタンパク質をコードする DNA。

(31) 配列番号 22 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ビルビン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

(32) 下記 (a 8) 又は (b 8) に示す DNA である (32) の DNA。

(a 8) 配列表の配列番号 21 に記載の塩基配列からなる塩基配列を含む DNA。

(b 8) 配列表の配列番号 21 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ビルビン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

(33) 配列番号 24 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ビルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

(34) 下記 (a 9) 又は (b 9) に示す DNA である (33) の DNA。

(a 9) 配列表の配列番号 23 に記載の塩基配列からなる塩基配列を含む DNA。

(b 9) 配列表の配列番号 23 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ビルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

(35) 配列番号 26 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ホスホエノールビルビン酸カルボキシ

ラーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(36) 下記(a10)又は(b10)に示すDNAである(35)のDNA。

(a10) 配列表の配列番号25に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b10) 配列表の配列番号25に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ホスホエノールビルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(37) 配列番号28に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、アコニターゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(38) 下記(a11)又は(b11)に示すDNAである(37)のDNA。

(a11) 配列表の配列番号27に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b11) 配列表の配列番号27に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、アコニターゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(39) 配列番号30に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(40) 下記(a12)又は(b12)に示すDNAである(39)のDNA。

(a12) 配列表の配列番号27に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b12) 配列表の配列番号27に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(41) 配列番号32に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミ

ノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ジヒドロリボアミドデヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(42) 下記(a13)又は(b13)に示すDNAである(41)のDNA。

(a13) 配列表の配列番号31に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b13) 配列表の配列番号31に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ジヒドロリボアミドデヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(43) 配列番号34に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(44) 下記(a14)又は(b14)に示すDNAである(43)のDNA。

(a14) 配列表の配列番号33に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b14) 配列表の配列番号33に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(45) 配列表の配列番号80に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、42℃で37℃における活性と同等又はそれ以上のグルタミン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(46) 下記(a15)又は(b15)に示すDNAである(45)のDNA。

(a15) 配列表の配列番号79に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b15) 配列表の配列番号79に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、42℃

で 37℃における活性と同等又はそれ以上のグルタミン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

(47) 配列表の配列番号 90 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、37℃で 23℃における活性と同等又はそれ以上のクエン酸シンターゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

(48) 下記 (a16) 又は (b16) に示す DNA である (47) の DNA。

(a16) 配列表の配列番号 89 に記載の塩基配列からなる塩基配列を含む DNA。

(b16) 配列表の配列番号 89 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、37℃で 23℃における活性と同等又はそれ以上のクエン酸シンターゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

(49) L-アミノ酸生産能を有し、かつ、(17) ~ (48) のいずれかの DNA が導入された微生物を培地に培養し、L-アミノ酸を培地に生成蓄積させ、該培地より L-アミノ酸を採取することを特徴とする L-アミノ酸の製造法。

以下、上記の各 DNA のいずれか、又はこれらを総称して、本発明の DNA ということがある。

以下、本発明を詳細に説明する。

本発明の DNA の塩基配列及び遺伝子名、並びに本発明の DNA がコードするタンパク質を表 1 に示す。

表 1

| 塩基配列 | 遺伝子名 | コードされるタンパク質 (略称) |
|---------------------|---------|--------------------------|
| 配列番号 1 | aceA | イソシトレートリアーゼ (ICL) |
| 配列番号 3 | accBC | アシルCo-Aカルボキシラーゼ BCサブユニット |
| 配列番号 5 | dtsR1 | D T S R 1 蛋白質 |
| 配列番号 7 | dtsR2 | D T S R 2 蛋白質 |
| 配列番号 9 | pfk | ホスホフルクトキナーゼ |
| 配列番号 11, 13, 15, 93 | scrB | インベルターゼ |
| 配列番号 16 | gluABCD | グルタミン酸取り込み系 |
| 配列番号 21 | pdhA | ピルビン酸デヒドロゲナーゼ |
| 配列番号 23 | pc | ピルビン酸カルボキシラーゼ |
| 配列番号 25 | ppc | ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ |
| 配列番号 27 | acn | アコニターゼ |
| 配列番号 29 | icd | イソクエン酸デヒドロゲナーゼ |
| 配列番号 31 | lpd | ジヒドロリポアミドデヒドロゲナーゼ |
| 配列番号 33 | odhA | 2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼ |
| 配列番号 79 | gdh | グルタミン酸デヒドロゲナーゼ |
| 配列番号 89 | gltA | クエン酸シンターゼ |

尚、配列番号 3、23、25、31 及び 33 におけるオープン・リーディング・フレーム (ORF)、及び配列番号 16 の 4 番目の ORF はいずれも GTG から始まっている。配列表にはこの GTG によりコードされるアミノ酸はバリンとして記載されているが、メチオニンである可能性がある。

また、配列番号 16 は 4 つの ORF を含み、5' 側から順に gluA、gluB、gluC 及び gluD に対応する。

上記の各 DNA は、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310 株 (FERM BP-1542) の染色体 DNA から単離されたものである。但し、AJ12310 株は、インベルターゼ活性及びシュークロース資化性を持たず、同株から単離した scrB 遺伝子断片には、オープンリーディングフレームが存在しなかったため、配列番号 11 及び 13 に示す DNA は、インベルターゼ活性及びシュークロース資化性を

有するコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12340株 (FERM BP-1539) 及びAJ12309株 (FERM BP-1541) からそれぞれ単離されたものである。

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株 (YS-314株とも称される) 及びAJ12309株 (YS-155株とも称される) は、1987年3月10日に通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所 (郵便番号305-8566 日本国茨城県つくば市東一丁目1番3号) に、各々順にFERM P-9246及びFERM P-9245の受託番号で寄託され、1987年10月27日にブタベスト条約に基づく国際寄託に移管され、受託番号FERM B P-1542及びFERM BP-1541が付与されている。

AJ12340株 (YS-40株とも称される) は、1987年3月13日に工業技術院生命工学工業技術研究所 (郵便番号305-8566 日本国茨城県つくば市東一丁目1番3号) にFERM P-9277の受託番号で寄託され、1987年10月27日にブタベスト条約に基づく国際寄託に移管され、FERM BP-1539が付与されている。

尚、配列番号11、13及び15に示す塩基配列は、scrBの部分配列であって、配列番号11及び13は配列番号12及び14に示すインベルターゼの部分アミノ酸配列をコードしている。

目的とする遺伝子の部分断片を含むDNAは、すでに報告されているプレビバクテリウム・ラクトファーマンタム等の種々の微生物の目的とする遺伝子の塩基配列の比較を行い、塩基配列がよく保存されている領域を選択し、その領域の塩基配列に基づいて設計したプライマーを用い、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの染色体DNAを鋳型とするPCRを行うことによって、取得することができる。得られたDNA断片又はその配列に基づいて作製したプローブを用いたハイブリダイゼーションにより、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの染色体DNAライブラリーをスクリーニングすることによって、目的とする遺伝子全長を含むDNA断片を得ることができる。また、得られた遺伝子の部分断片を用いてゲノムウォーキングを行うことによって、目的とする遺伝子全長を含むDNA断片を得ることができる。ゲノムウォーキングと、市販のキット、例えばTaKaRa LA PCR in vitro Cloning Kit (宝酒造 (株) 製) を用いて行うことができる。

例えば、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ (以下、「GDH」ともいう) をコード

するDNA（以下、「gdh」ともいう）は、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス、例えばコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株の染色体DNAから、該染色体DNAを鋳型とし、配列表の配列番号77及び78に示す塩基配列を有するプライマーを用いたPCR（ポリメラーゼ・チェーン・リアクション）により部分断片を取得することができる。さらに、得られた部分断片を用いてゲノムウォーキングを行うことにより、gdh遺伝子全体を取得することができる。

また、クエン酸シンターゼ（以下「CS」ともいう）をコードするDNA（以下、「gltA」ともいう）は、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス、例えばコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株の染色体DNAから、該染色体DNAを鋳型とし、配列表の配列番号83及び84に示す塩基配列を有するプライマーを用いたPCR（ポリメラーゼ・チェーン・リアクション）により部分断片を取得することができる。さらに、得られた部分断片を用いてゲノムウォーキングを行うことにより、gltA遺伝子全体を取得することができる。

上記プライマーの塩基配列は、すでに報告されている種々の微生物のgdh遺伝子又はgltA遺伝子の塩基配列の比較を行い、塩基配列がよく保存されている領域を見出し、その領域の塩基配列に基づいて設計したものである。

同様に、他の酵素をコードするDNAも、表1に示すプライマーを用いてそれらの酵素をコードする部分断片を取得することができ、得られた部分断片を用いて目的とする遺伝子全長を得ることができる。

本発明のDNAは、上記のようにして取得されたものであるが、本発明のDNAの塩基配列に基づいて作製したオリゴヌクレオチドをプローブとするハイブリダイゼーションによって、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの染色体DNAライブラリーから取得することもできる。

染色体DNAの調製、染色体DNAライブラリーの作製、ハイブリダイゼーション、PCR、プラスミドDNAの調製、DNAの切断及び連結、形質転換等の方法は、Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T., Molecular Cloning, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1.21(1989)に記載されている。また、ゲノムウォーキングは、市販のキット、例えばTaKaRa LA PCR in vitro Cloning Kit（宝酒

造（株）製）を用いて行うことができる。

次に、本発明のDNAを取得する具体的な方法を例示する。

まず、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの染色体DNAを、適当な制限酵素、例えばSau3AIで消化し、アガロースゲル電気泳動により分画して約4～6 kbのDNAフラグメントを取得する。得られたDNAフラグメントをpHSG399等のクローニングベクターに挿入し、得られた組換えプラスミドでエシェリヒア・コリを形質転換して、染色体DNAのプラスミドライブラリーを作製する。

一方、プラスミドライブラリーから目的の遺伝子を含むクローンをPCRにより選択するために用いるプライマーを作製する。このプライマーは、目的とする遺伝子に対応する種々の微生物の既知の遺伝子配列の間でアミノ酸レベルで保存されている領域に基づいて設計する。その際、コリネ型細菌のコドンユーセージを考慮してプライマーを複数組つつ設計する。

次に、作製されたプライマーの適正を調べるために、これらのプライマーを用いて、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの染色体DNAを鋳型としてPCRを行う。そして、増幅断片が得られたプライマーをスクリーニング用プライマーとして用い、プラスミドライブラリーから調製した組換えプラスミドを鋳型としてPCRを行い、目的とするDNA断片を含むクローンを選択する。この操作は、一次スクリーニングとして形質転換体数十株を含むバッチ毎に行い、二次スクリーニングとして増幅断片が得られたバッチについてコロニーPCRを行うことにより、迅速に行うことができる。尚、増幅された遺伝子の断片長は、表2～7に記載した。

上記のようにして選択された形質転換体から組換えDNAを調製し、挿入断片の塩基配列をダイ・デオキシ・ターミネーション法等により決定し、塩基配列を既知の遺伝子配列と比較することによって、目的の遺伝子を含むことを確認する。

得られたDNA断片が、目的とする遺伝子の一部を含んでいる場合には、ゲノムウォーキングにより欠失部分を取得する。

本発明のDNAは、コードされるタンパク質が本来の機能を有する限り、1若しくは複数の位置での1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むタンパク質をコードするものであってもよい。ここで、「数個」と

は、アミノ酸残基のタンパク質の立体構造における位置や種類によっても異なるが、一般的に、それぞれのタンパク質のアミノ酸配列全体に対し、30から40%以上、好ましくは55～65%以上の相同性を有することが好ましい。具体的には、前記「数個」は、2～数百個、好ましくは、2～数十個、より好ましくは2～10個である。

塩基配列及びアミノ酸配列の相同性解析は、例えば、LipmanとPearsonの方法 (Science, 227, 1435-1441, 1985) 等により、市販のソフトウェア (Genetyx-Mac computer program, Software Development Co., Tokyo, Japan) を用いて計算することができる。

GDHは、GDHを構成するアミノ酸配列全体に対し、40～80%以上、好ましくは80～90%以上の相同性を有し、42℃で37℃におけるGDH活性と同等又はそれ以上の活性を有するものであってもよい。また、前記「数個」は、2から300個、好ましくは、2から50個、より好ましくは2から10個である。

CSは、CSを構成するアミノ酸配列全体に対し、40～80%以上、好ましくは80～90%以上の相同性を有し、37℃で23℃におけるCS活性と同等又はそれ以上の活性を有するものであってもよい。また、前記「数個」は、2から300個、好ましくは、2から50個、より好ましくは2から10個である。

上記のような本来のタンパク質と実質的に同一のタンパク質をコードするDNAは、例えば部位特異的変異法によって、特定の部位のアミノ酸残基が置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むように、それぞれのタンパク質をコードするDNAの塩基配列を改変することによって得られる。また、上記のような改変されたDNAは、従来知られている変異処理によっても取得され得る。変異処理としては、目的の遺伝子をコードするDNAをヒドロキシルアミン等でインビトロ処理する方法、及び目的の遺伝子をコードするDNAを保持する微生物、例えばエシェリヒア属細菌を、紫外線照射またはN-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (NTG) もしくは亜硝酸等の通常変異処理に用いられている変異剤によって処理する方法が挙げられる。

また、上記のような塩基の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位等には、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの菌株の違い等に基づく場合などの天然に生

じる変異 (mutant又はvariant) も含まれる。

変異を有するDNAを、適当な細胞で発現させ、発現産物のタンパク質の活性又は機能を調べることにより、本来のタンパク質と実質的に同一のタンパク質をコードするDNAが得られる。また、そのようなDNAは、変異を有するタンパク質をコードするDNAまたはこれを保持する細胞から、例えば表1に示す各配列番号の塩基配列を有するDNAもしくはそのコード領域又はその塩基配列から調製されるプローブとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、当該タンパク質が本来有する活性を示すタンパク質をコードするDNAを単離することによっても得ることができる。前記活性としては、GDHでは42°Cで、CSでは37°Cで、各々の酵素活性を示すことが好ましい。

上記プローブは、表1に示す各配列番号の塩基配列を有するDNA、又はそれらの塩基配列を有するDNAから、適当なプライマーを用いてPCRにより調製することができる。

上記でいう「ストリンジェントな条件」とは、いわゆる特異的なハイブリッドが形成され、非特異的なハイブリッドが形成されない条件をいう。この条件を明確に数値化することは困難であるが、一例を示せば、相同性が高いDNA同士、例えば50%以上の相同性を有するDNA同士がハイブリダイズし、それより相同性が低いDNA同士がハイブリダイズしない条件、あるいは通常のサザンハイブリダイゼーションの洗いの条件である60°C、1×SSC、0.1%SDS、好ましくは、0.1×SSC、0.1%SDSに相当する塩濃度でハイブリダイズする条件が挙げられる。

このような条件でハイブリダイズする遺伝子の中には途中にストップコドンが発生したものや、活性中心の変異により活性を失ったものも含まれるが、それらについては、市販の活性発現ベクターにつなぎ、活性又は機能を調べることによって容易に取り除くことができる。

本発明のDNAを、適当な宿主-ベクター系を用いて発現させることにより、それぞれのDNAに対応したタンパク質を製造することができる。

遺伝子の発現に用いる宿主としては、ブレヴィバクテリウム・ラクトファーマンタム (コリネバクテリウム・グルタミカム)、コリネバクテリウム・サーモアミ

ノゲネス等のコリネ型細菌、エシェリヒア・コリ、バチルス・ズブチリスをはじめとする種々の原核細胞、サッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) をはじめとする種々の真核細胞、動物細胞、植物細胞が挙げられるが、これらの中では原核細胞、特にコリネ型細菌及びエシェリヒア・コリが好ましい。

本発明のDNAは、エシェリヒア・コリ及び／又はコリネ型細菌等の細胞内において自律複製可能なベクターDNAに接続して組換えDNAを調製し、これをエシェリヒア・コリ細胞に導入しておく、後の操作がしやすくなる。エシェリヒア・コリ細胞内において自律複製可能なベクターとしては、プラスミドベクターが好ましく、宿主の細胞内で自立複製可能なものが好ましく、例えば pUC19、pUC18、pBR322、pHSG299、pHSG399、pHSG398、RSF1010等が挙げられる。

コリネ型細菌の細胞内において自律複製可能なベクターとしては、pAM330 (特開昭58-67699号公報参照)、pHM1519 (特開昭58-77895号公報参照) 等が挙げられる。また、これらのベクターからコリネ型細菌中でプラスミドを自律複製可能にする能力を持つDNA断片を取り出し、前記エシェリヒア・コリ用のベクターに挿入すると、エシェリヒア・コリ及びコリネ型細菌の両方で自律複製可能ないわゆるシャトルベクターとして使用することができる。

このようなシャトルベクターとしては、以下のものが挙げられる。尚、それぞれのベクターを保持する微生物及び国際寄託機関の受託番号をカッコ内に示した。

- pAJ655 エシェリヒア・コリAJ11882(FERM BP-136)
 コリネバクテリウム・ゲルタミクムSR8201(ATCC39135)
- pAJ1844 エシェリヒア・コリAJ11883(FERM BP-137)
 コリネバクテリウム・ゲルタミクムSR8202(ATCC39136)
- pAJ611 エシェリヒア・コリAJ11884(FERM BP-138)
- pAJ3148 コリネバクテリウム・ゲルタミクムSR8203(ATCC39137)
- pAJ440 バチルス・ズブチリスAJ11901(FERM BP-140)
- pHC4 エシェリヒア・コリAJ12617(FERM BP-3532)

本発明のDNAとコリネ型細菌で機能するベクターを連結して組み換えDNAを調製するには、本発明のDNAの末端に合うような制限酵素でベクターを切断

する。連結は、T4 DNAリガーゼ等のリガーゼを用いて行うのが普通である。

上記のように調製した組み換えDNAをコリネ型細菌等の宿主に導入するには、これまでに報告されている形質転換法に従って行えばよい。例えば、エシェリヒア・コリ K-12 について報告されているような、受容菌細胞を塩化カルシウムで処理してDNAの透過性を増す方法 (Mandel, M. and Higa, A., J. Mol. Biol., 53, 159 (1970)) があり、バチルス・ズブチリスについて報告されているような、増殖段階の細胞からコンピテントセルを調製してDNAを導入する方法 (Duncan, C.H., Wilson, G.A. and Young, F.E., Gene, 1, 153 (1977)) がある。あるいは、バチルス・ズブチリス、放線菌類及び酵母について知られているような、DNA受容菌の細胞を、組換えDNAを容易に取り込むプロトプラストまたはスフェロプラストの状態にして組換えDNAをDNA受容菌に導入する方法 (Chang, S. and Choen, S.N., Molec. Gen. Genet., 168, 111 (1979); Bibb, M.J., Ward, J. M. and Hopwood, O.A., Nature, 274, 398 (1978); Hinnen, A., Hicks, J.B. and Fink, G.R., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75 1929 (1978)) も応用できる。コリネ型細菌においては、電気パルス法 (特開平2-207791号公報参照) が有効である。

また、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス等の高温耐性コリネ型細菌の形質転換は、宿主細胞の細胞壁の構造を変化させる薬剤で処理し、細胞壁の構造が変化した細胞とDNAを含む溶液に電気パルスを印加することにより、効率よく形質転換を行うことができる。前記薬剤とは、薬剤で処理した細菌とDNAを含む溶液に電気パルスを印加したときに、同細菌がDNAを取り込むことができるように、細胞壁の構造を変化させることができる薬剤 (以下、「細胞壁処理剤」ということがある) であり、細菌の正常な細胞壁の合成を阻害する薬剤、又は、細菌の細胞壁を溶解する薬剤が挙げられる。具体的には、リゾチーム、ペニシリンG、グリシン等が挙げられる。

細胞壁処理剤は1種でもよく、2種以上を用いてもよい。前記薬剤の中では、リゾチーム又はペニシリンGが好ましく、リゾチームが特に好ましい。

さらに、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの形質転換は、細胞壁を超音波処理 (FEMS Microbiology Letters, 151, 135-138 (1987)) 等の物理的な方

法で弱化させた宿主細胞とDNAを含む溶液に電気パルスを印加することによっても、行うことができる。

本発明のDNAに含まれる遺伝子の発現を効率的に実施するために、これらの遺伝子のコード領域の上流に、宿主細胞内で働くlac、trp、Pl等のプロモーターを連結してもよい。ベクターとして、プロモーターを含むベクターを用いると、各遺伝子と、ベクター及びプロモーターとの連結を一度に行うことができる。

上記のようにして製造され得る本発明のタンパク質は、必要に応じて、菌体抽出液又は培地からイオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィー、吸着クロマトグラフィー、塩析、溶媒沈殿等、通常の酵素の精製法を用いて精製することができる。

本発明のタンパク質は、コリネバクテリウム・グルタミカム等の対応するタンパク質に比べて、熱安定性に優れているか、又は高温下で高い活性を示すことが期待される。例えば、ブレビバクテリウム・ラクトファーマメンタムのGDHが37℃付近で最もGDHの比活性が高く、42℃付近で活性は著しく低下するのに対し、本発明のGDHは、42℃で37℃における活性と同等又はそれ以上のGDH活性を示す。好ましい実施態様では、本発明のGDHは、42℃付近で最も比活性が高く、45℃でも活性を示す。

GDH活性は、例えば、100mM Tris-HCl (pH8.0)、20mM NH₄Cl、10mM α -ケトグルタル酸ナトリウム、0.25mM NADPHに酵素を加え、340nmにおける吸光度の変化を測定することによって、測定することができる (Molecular Microbiology (1992) 6, 317-326)。

また、ブレビバクテリウム・ラクトファーマメンタムのCSが23℃付近で最もCSの比活性が高く、33℃付近で活性が著しく低下するのに対し、本発明のCSは、37℃で23℃における活性と同等又はそれ以上の活性を示す。好ましい実施態様では、本発明のCSは、37℃付近までは反応温度に依存して高い比活性を示し、40℃でも37℃における活性の約4割の活性を示す。

CS活性は、例えば、Methods in Enzymol., 13, 3-11 (1969)に記載の方法によって測定することができる。

さらに、本発明の他のタンパク質は、典型的には以下の性質を有する。イソシトレートリアーゼは、50℃、5分の熱処理後に30%以上の残存活性を有する。ホスホフルクトキナーゼは、60℃で30℃における活性と同等又はそれ以上の活性を有する。ホスホエノールビルビン酸カルボキシラーゼは、45℃、5分の熱処理後に50%以上の残存活性を有する。アコニターゼは、50℃、3分の熱処理後に30%以上の残存活性を有する。イソクエン酸デヒドロゲナーゼは、45℃、10分の熱処理後に50%以上の残存活性を有する。2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼは、50℃、10分の熱処理後に30%以上の残存活性を有する。

本発明のタンパク質は、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス、例えばコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株の菌体破碎液から、それぞれの活性を指標として、通常の酵素の精製法、例えば、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィー、吸着クロマトグラフィー、塩析、溶媒沈殿等の方法で精製することによって、取得することもできる。

本発明のDNAのうち、pfk、pdhA、pc、ppc、acn、icd、gdh及びgltA（これらの遺伝子がコードする酵素名は表1に示す）は、コリネ型細菌等のL-アミノ酸生産菌に導入することによって、L-アミノ酸生産能を高めることができる。また、本発明のDNAが導入されたコリネ型細菌は、通常よりも高い温度でのL-アミノ酸の生産が可能となることが期待される。L-アミノ酸としては、L-グルタミン酸、L-アスパラギン酸、L-リジン、L-アルギニン、L-プロリン及びL-グルタミン等が挙げられる。

例えば、gdh遺伝子又はgltA遺伝子を、コリネ型細菌等のL-グルタミン酸生産菌に導入することによって、通常よりも高い温度でのL-グルタミン酸の生産が可能となることが期待される。また、プレビバクテリウム・ラクトファーマータムのCSは、通常の培養温度、例えば31.5℃では十分に機能していない可能性があるが、本発明のgltA遺伝子を導入することによって、活性を高めることができる。

また、dtsR1及びdtsR2は、コリネ型細菌に界面活性剤に対する耐性を付与する蛋白質（DTSR蛋白）をコードする遺伝子であり、これらの遺伝子が破壊され

たコリネ型L-グルタミン酸生産菌は、野生株がほとんどL-グルタミン酸を生成しない量のビオチンが存在する条件においても著量のL-グルタミン酸を生成する。また、L-リジン生産能を有するコリネ型L-グルタミン酸生産菌は、*dt sR1*及び*dt sR2*遺伝子を増幅すると、著量のL-リジンを生産する能力が付与される（W095/23224号国際公開パンフレット、特開平10-234371号公報）。

*scrB*遺伝子は、シュクロースを含む培地でコリネ型細菌を用いてL-アミノ酸を製造する場合に、同コリネ型細菌の育種に用いることができる。

コリネ型細菌等のL-グルタミン酸生産菌において、*aceA*、*accBC*、*lpd*又は*odhA*を欠失させることにより、L-グルタミン酸生産性を高めることができる。また、*gluABCD*はL-グルタミン酸の取り込み系の遺伝子クラスターであり、コリネ型L-グルタミン酸生産菌において、*gluA*、*gluB*、*gluC*もしくは*gluD*、又はこれらの1種、2種、3種もしくは4種を欠失させることにより、培地に蓄積されるL-グルタミン酸量を増大させることができる。本発明の*aceA*、*accBC*、*lpd*、*odhA*及び*gluABCD*は、染色体上のこれらの遺伝子を破壊するのに用いることができる。

上記のようにして本発明のDNAが導入された微生物を用いてL-アミノ酸を製造するのに用いる培地は、炭素源、窒素源、無機イオン及び必要に応じその他の有機微量栄養素を含有する通常の培地である。炭素源としては、グルコース、ラクトース、ガラクトース、フラクトース、シュクロース、廃糖蜜、澱粉加水分解物などの炭水化物、エタノールやイノシトールなどのアルコール類、酢酸、フマル酸、クエン酸、コハク酸等の有機酸類を用いることができる。

窒素源としては、硫酸アンモニウム、硝酸アンモニウム、塩化アンモニウム、リン酸アンモニウム、酢酸アンモニウム等の無機アンモニウム塩、アンモニア、ペプトン、肉エキス、酵母エキス、酵母エキス、コーン・スティープ・リカー、大豆加水分解物などの有機窒素、アンモニアガス、アンモニア水等を用いることができる。

無機イオンとしては、リン酸カリウム、硫酸マグネシウム、鉄イオン、マンガンイオン等が少量添加される。有機微量栄養素としては、ビタミンB₁などの要求物質または酵母エキス等を必要に応じ適量含有させることが望ましい。

培養は、振とう培養、通気攪拌培養等による好氣的条件下で16～72時間実施するのがよく、培養温度は30℃～47℃に、培養中pHは5～9に制御する。培養温度は、本発明のDNAが導入されていない微生物の培養に適した温度、又はそれよりも高い温度で培養する。尚、pH調整には無機あるいは有機の酸性あるいはアルカリ性物質、更にアンモニアガス等を使用することができる。

発酵液からのL-アミノ酸の採取は、L-アミノ酸の種類に応じてイオン交換樹脂法、沈澱法、晶析法その他の公知の方法を組み合わせることにより実施できる。

図面の簡単な説明

図1は、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株及びブレビバクテリウム・ラクトファーマンタム2256株のグルタミン酸デヒドロゲナーゼの活性の温度による変化を示す図である。

図2は、AJ12310株及び2256株のグルタミン酸デヒドロゲナーゼの熱安定性を示す図である。

図3は、AJ12310株及び2256株のクエン酸シンターゼの活性の温度による変化を示す図である。

図4は、AJ12310株及び2256株のクエン酸シンターゼの熱安定性を示す図である。

図5は、AJ12310株及び2256株のイソシトレートリアーゼの活性の温度による変化を示す図である。

図6は、AJ12310株及び2256株のイソシトレートリアーゼの熱安定性を示す図である。

図7は、AJ12310株及び2256株のホスホフルクトキナーゼの活性の温度による変化を示す図である。

図8は、AJ12310株及び2256株のホスホフルクトキナーゼの熱安定性を示す図である。

図9は、AJ12310株及び2256株のホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼの活性の温度による変化を示す図である。

図 1 0 は、AJ12310株及び2256株のホスホエノールビルビン酸カルボキシラーゼの熱安定性を示す図である。

図 1 1 は、AJ12310株及び2256株のアコニターゼの活性の温度による変化を示す図である。

図 1 2 は、AJ12310株及び2256株のアコニターゼの熱安定性を示す図である。

図 1 3 は、AJ12310株及び2256株のイソクエン酸デヒドロゲナーゼ活性の温度による変化を示す図である。

図 1 4 は、AJ12310株及び2256株のイソクエン酸デヒドロゲナーゼの熱安定性を示す図である。

図 1 5 は、AJ12310株及び2256株の 2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼの熱安定性を示す図である。

図 1 6 は、scrB遺伝子搭載プラスミドpSCR155の構築を示す図

図 1 7 は、pdhA遺伝子搭載プラスミドpPDHA-2の構築を示す図である。

図 1 8 は、pdhA遺伝子増幅株によるL-グルタミン酸生産性を示す図である。

(a) : 37°C (b) : 44°C

図 1 9 は、icd遺伝子搭載プラスミドpICD-4の構築を示す図である。

図 2 0 は、icd遺伝子増幅株によるL-グルタミン酸生産性を示す図である。

(a) : 37°C (b) : 44°C

図 2 1 は、プラスミドpHSG299YGDH及びpYGDHの構築を示す図である。

図 2 2 は、プラスミドpHSG299YCS及びpYCSの構築を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明を実施例によりさらに具体的に説明する。

実施例 1

< 1 > コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスのプラスミドライブラリーの作製

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310株を、CM2B液体培地（イーストエキストラクト（Difco社製）1g/dl、ポリペプトン（日本製薬製）1g/dl、N

aCl 0.5g/dl、ビオチン 10 μ g/dl、pH 7.0 (KOHで調整)) で37°Cにて15時間培養し、10mlの培養液から、染色体DNAを染色体DNA抽出キット (Bacterial Genome DNA Purification Kit (Advanced Genetic Technologies社製)を用いて取得した。取得したDNAを、制限酵素Sau3AIを用いて部分消化し、0.8%アガロースゲル電気泳動を行い、DNAを分画した後に、約4~6kbのDNAフラグメントをゲルから切り出し、DNAゲル抽出キット (GIBCO BRL社、ConcertTM Rapid Gel Extraction System)を用いて、目的サイズのDNA断片を取得した。

プラスミドpHSG399 (宝酒造 (株) 製) をBamHIで完全消化し、末端をアルカリフォスファターゼ (CIAP; 宝酒造 (株) 製) を用いて脱リン酸化した。このベクター断片と、上記の染色体DNA断片を宝酒造社製DNAライゲーションキットを用いて連結し、得られた組換えベクターを用いてエシェリヒア・コリ JM109を形質転換した。形質転換体の選択は、30 μ g/mlのクロラムフェニコール、0.04mg/mlのIPTG (イソプロピルー β -D-チオガラクトピラノシド)、0.04mg/mlのX-Gal (5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリルー β -D-ガラクトシド) を含むLB寒天培地 (寒天 1.5g/dlを含む) 上にて行い、白色コロニーを約4000コロニー取得した。

< 2 > 各遺伝子断片増幅用プライマーの設定

上記で得られたプラスミドライブラリーから目的の遺伝子を含むクローンをPCRにより選択するために用いるプライマーを設計した。目的とする遺伝子は前記のとおりである。

プライマーは、コリネ型細菌の既知の遺伝子配列をベースとして、他の微生物の相当する遺伝子との間でアミノ酸レベルで保存されている領域に基づいて設計した。その際、コリネ型細菌のコドンユーセージを考慮してプライマーを複数組つつ設計した。

作製されたプライマーの適正を調べるために、これらのプライマーを用いて、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株の染色体DNAを鋳型としてPCRを行い、遺伝子断片を増幅した。その結果、いずれの遺伝子も、表2~表7の上段に示すプライマーを用い、各表中に「部分断片取得のPCR」として示

した条件及びポリメラーゼでPCRを行った場合に、増幅断片が認められた。各プライマーの末尾のカッコ内の数字は、配列表中の配列番号を示す。これらのプライマーを、後述のスクリーニング用プライマーとして用いた。

表 2

| 遺伝子名 | aceA | accBC | dtSRI |
|-------------------------------------|--|--|--|
| 5' → 3' 7° ライマー 3' → 5' 7° ライマー | CCTCTACCCAGCGAACTCCG (35) CTGCCTTGAAC TCACGGTTC (36) | CATCCACCCGGGTACGGCT (37) CGGTGACTGGGTGTTCCACC (38) | ACGGGCCAGCCCTGACCGAC (39) AGCAGGCCCATGACGGCGA (40) |
| 部分断片取得のPCR 条件及び スクリーニングPCRの条件 | 94°C 5min 98°C 5sec 66°C 2sec 30 cycle Z-Taq | 94°C 5min 98°C 5sec 66°C 2sec 30 cycle Z-Taq | 94°C 5min 98°C 5sec 66°C 2sec 30 cycle Z-Taq |
| JD-PCRの条件 | 94°C 7min 91°C 30sec 55°C 1sec 72°C 2.5min 30 cycle Ex-Taq | 94°C 7min 91°C 30sec 55°C 1sec 72°C 2.5min 30 cycle Ex-Taq | 94°C 7min 91°C 30sec 55°C 1sec 72°C 2.5min 30 cycle Ex-Taq |
| 増幅断片 | 824bp | 673bp | 805bp |

表 3

| 遺伝子名 | dtsR2 | pfk | scrB |
|-------------------------------------|--|--|--|
| 5'→3'プライマー 3'→5'プライマー | ACGGCCAGCCCTGACCGAC (41) AGCAGCGCCCATGACGGCGA (42) | CCTCATCCGAGGAATCGTCC (43) CGTGGCGGCCCATGACCTCC (44) | GGCGHYTBAAYGAYCC (45) GGRCAYTCCCACATRTANCC (46) |
| 部分断片取得のPCR 条件及び スクリーニングPCRの条件 | 94°C 5min 98°C 5sec 66°C 2sec 30 cycle Z-Taq | 94°C 5min 98°C 5sec 66°C 2sec 30 cycle Z-Taq | 94°C 5min 98°C 5sec 50°C 10sec 72°C 20sec 40 cycle Z-Taq |
| コリ-PCRの条件 | 94°C 7min 91°C 30sec 55°C 1sec 72°C 2.5min 30 cycle Ex-Taq | 94°C 7min 91°C 30sec 55°C 1sec 72°C 2.5min 30 cycle Ex-Taq | 94°C 7min 91°C 30sec 55°C 1sec 72°C 2.5min 30 cycle Ex-Taq |
| 増幅断片 | 805bp | 472bp | 500bp |

表 4

| 遺伝子名 | gluABCD | pdhA |
|--------------------------------|--|--|
| 5' → 3' プライマー 3' → 5' プライマー | CCATCCGGATCCGGCAAGTC (47) AATCCCATCTCGTGGGTAAC (48) | ACTGTGTCCATGGGTCTTGGCCC (49) CGCTGGAATCCGAACATCGA (50) |
| 部分断片 取得の PCR条件 | 94°C 5min 98°C 5sec 50°C 10sec 72°C 20sec 30 cycle Z-Taq | 94°C 5min 98°C 5sec 50°C 10sec 72°C 20sec 30 cycle Z-Taq |
| 増幅断片 | 500bp | 1200bp |
| スクリーニング PCR ジョー PCR の条件 | 94°C 5min 94°C 30sec 50°C 1min 72°C 2min 30 cycle EX-Taq | 94°C 5min 94°C 30sec 50°C 1min 72°C 2min 30 cycle EX-Taq |

表 5

| 遺伝子名 | pc | ppc |
|--------------------------------|---|--|
| 5' → 3' プライマー 3' → 5' プライマー | GGCGCAACCTACGACGTTGCAATGCG (51) TGGCCGCCTGGGATCTCGTG (52) | GGTTCCTGGATTGGTGGAGA (53) CCGCCATCCTTGTTGGAATC (54) |
| 部分断片 取得の PCR条件 | 94°C, 5min 98°C, 5sec 55°C, 80sec 30 cycle Z-Taq | 94°C 5min 98°C 5sec 50°C 5sec 72°C 10sec 30 cycle Z-Taq |
| 増幅断片 | 781bp | 1000bp |
| スクリーニング PCR の条件 | 94°C, 5min 98°C, 5sec 55°C, 80sec 30 cycle Z-Taq | 94°C 5min 98°C 5sec 50°C 5sec 72°C 10sec 30 cycle Z-Taq |
| ジョー PCR の条件 | 94°C, 5min 1 cycle 98°C, 5sec 55°C, 80sec 50 cycle Z-Taq | 94°C 5min 98°C 5sec 50°C 10sec 72°C 20sec 50 cycle Z-Taq |

表 6

| 遺伝子名 | acn | icd | lpd |
|---|--|--|---|
| 5'→3'プライマー 3'→5'プライマー | GT1GGIACIGAYTCSCATAC (55) GC1GGAGAIATGTGRTCTGT (56) | GACATTTCACTCGCTGGACG (57) CCGTACTCTTCAGCCTTCTG (58) | ATCATCGCAACCGGTTTC (59) CGTCACCGATGGCGTAAAT (60) |
| 部分断片 取得の PCR条件 | 94°C 1min 96°C 20sec 45°C 1min 68°C 2min 30 cycle EX-Taq | 94°C 5min 98°C 5sec 55°C 80sec 30 cycle Z-Taq | 94°C 5min 98°C 5sec 50°C 10sec 72°C 20sec 30 cycle Z-Taq |
| 増幅断片 | 1500bp | 1500bp | 500bp |
| スクリーニング・PCR コピ-PCR の条件 | 同 上 | 同 上 | 94°C 5min 94°C 30sec 57°C 1min 72°C 1min 30 cycle Ex-Taq TACGAGGAGCAGATCCTCAA (63) TTGACGCCGGTGTCTCCAG (64) |
| スクリーニング・PCR 5'→3'プライマー 3'→5'プライマー | | | |
| LAクローニング (N') | S1:GGTGAAGCTAAGTAGTTAGC (65) S2:AGCTACTAAACCTGCACC (66) | S1:CCGTACTCTTCAGCCTTCTG (67) S2:TCGTCTTGTTCACATC (68) | S1:ATCATCGCAACCGGTTTC (69) S2:TACGAGGAGCAGATCCTCAA (70) |
| LAクローニング (C') | S1:GCTAACTACTTAGCTTCACC (71) S2:GAACCAGGAATATTGAACC (72) | S1:TCCGATGTCATCATCGAC (73) S2:ATGTGGAACAAGGACGAC (74) | |
| 制限酵素 | PstI(N') HindIII(C') | Sall(N') PstI(C') | HindIII |
| LAクローニング の条件 | N' 94°C 1min 94°C 30sec 57°C 2min 72°C 2min 30 cycle LA-Taq C' 94°C 1min 94°C 30sec 57°C 2min 72°C 2.5min 30 cycle LA-Taq | 94°C 1min 94°C 30sec 57°C 2min 72°C 2.5min 30 cycle LA-Taq | 94°C 1min 94°C 30sec 57°C 2min 72°C 1min 30 cycle LA-Taq |

表 7

| | | | |
|--------------------------------|--|--|--|
| 遺伝子名 | odhA | | |
| 5' → 3' プライマー 3' → 5' プライマー | ACACCGTGGTCGCCTCAACG (61) TGCTAACCCGTCCCACCTGG (62) | | |
| 部分断片 取得の PCR条件 | 94°C 5min 98°C 5sec 66°C 2sec 30 cycle Z-Taq | | |
| 増幅断片 | 1306bp | | |
| LAコーニング (N°) 5' → 3' プライマー | S1: GTACATATTGTCGTTAGAACGCGTAATACGACTCA (75) S2: CGTTAGAACGCGTAATACGACTCACTATAGGGAGA (76) | | |
| 制限酵素 | XbaI | | |
| LAコーニング の条件 | 1 回目 | 94°C 30sec 55°C 2min 72°C 1min 30cycle LA-Taq | |
| | 2 回目 | 94°C 1min 98°C 20sec 68°C 15min 30 cycle 72°C 10min LA-Taq | |

< 3 > P C Rによるプラスミドライブラリーのスクリーニング

前記のプラスミドライブラリーから目的の遺伝子を含むクローンを、P C Rにより選択した。プラスミドライブラリーから、コロニーを60個ずつピックアップし、2枚ずつのLB寒天培地プレートにレプリカした。各プレートのコロニー60個ずつをまとめて、4mlのLB液体培地を含む試験管に接種し、15時間培養した後、プロメガ社製プラスミドDNA抽出キットを用いてそれぞれプラスミドの混合物を取得した。このプラスミド混合物を鋳型とし、各目的遺伝子毎に作製したスクリーニング用プライマーを用いて、各表中に「スクリーニングPCRの条件」として示した条件でP C Rを行い、染色体DNAを鋳型とするP C Rと同じ大きさのDNA断片が増幅されるクローンを選択した。

増幅されたDNA断片は、パーキンエルマー社製ビッグダイ・ダイターミネーターサイクルシーケンスキットを用いて塩基配列を決定し、既知の遺伝子情報との相同性を比較することにより、目的遺伝子の取得の成否を確認した。

尚、1 p dについては、＜2＞で作製したプライマーでは目的のDNA断片が増幅されなかったため、決定された塩基配列に基づいて、スクリーニング用プライマーを別途作製した。

＜4＞コロニーPCRによる目的遺伝子保持クローンの選択

目的の遺伝子断片の増幅が確認されたプラスミド混合物が由来するプレートを用いて、コロニーPCRを行い、遺伝子断片を含むクローンを選択した。コロニーPCRは、表2～7に示す条件で行った。

選択された形質転換体からプラスミドDNAを回収し、挿入DNA断片の塩基配列を決定した。挿入DNA断片に目的遺伝子の全長が挿入されておらず、遺伝子の上流域、下流域またはこれらの両方が欠失している場合は、判明した塩基配列を利用してプライマーを作製し、TaKaRa LA PCR in vitro Cloning Kit（宝酒造（株））を用いて、目的遺伝子の全領域の遺伝子断片を取得し、塩基配列を決定した。

LA PCRクローニングの概要は以下のとおりである。挿入DNA断片のうち2つの領域の塩基配列を有する2種のプライマーを作製する。コリネバクテリウム・サーモアミノグネスAJ12310株の染色体DNAを各種制限酵素で切断し、各制限酵素に対応したカセットプライマーと連結する。これを鋳型として、作製されたプライマーのうち欠失部分から遠い位置に対応するプライマー（S1）と、カセットプライマーの外側の位置に対応するカセットプライマー（C1）を用いてPCRを行う。次に、作製されたプライマーのうち欠失部分に近い位置に対応するプライマー（S2）と、カセットプライマーの内側の位置に対応するカセットプライマー（C2）を用いてPCRを行う。こうして、欠失部分を含むDNA断片が得られる。得られたDNA断片と既已取得されているDNA断片を連結することにより、目的遺伝子全長を含むDNA断片を得ることができる。尚、カセットの5'末端にはリン酸基が付いていないので、DNA断片の3'末端とカセットの

5' 末端との接続部位にはニックができる。そのため、1 回目のPCRではプライマーC1からのDNA合成はこの接続部分でストップし、非特異的な増幅は起こらないため、特異的な増幅を行うことができる。

LA PCRクローニングに用いたプライマーと反応条件は、表2～7に示した。表中「(N')」は上流側の欠失部分のクローニングに用いたプライマーを、「(C')」は下流側の欠失部分のクローニングに用いたプライマーを、それぞれ示す。また、PCR反応はLA PCRクローニングキットの説明書に従い、2 回行った。表に示したプライマーのうち、上段には1 回目の反応に用いたプライマー(S1)を、下段には2 回目の反応に用いたプライマー(S2)を示す。

上記のようにして得られた各遺伝子を含むDNA断片の塩基配列を、前記と同様にして決定した。それらの塩基配列及び同塩基配列がコードし得るアミノ酸配列を、配列番号1～34に示す。各配列番号に記載された配列は、後記〔配列表の説明〕に示したとおりである。

scrBについては、オープン・リーディング・フレームが見つからなかった。コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310株は、インベルターゼ活性を有しておらず、シュークロース資化性を持たないため、シュークロース資化性を有するコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12340株及びAJ12309株から、同様にしてscrB遺伝子断片を取得した。その結果、いずれの株からもオープン・リーディング・フレームを有するDNA断片が得られた。

実施例2 gdh、及びgltA遺伝子の取得

<1>コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスのGDH活性の検討

CM-2B寒天培地（イーストエキストラクト（Difco社製）1g/dl、ポリペプトン（日本製薬製）1g/dl、NaCl 0.5g/dl、ビオチン 10 μ g/dl、寒天 1.5g/dl、pH 7.0 (KOHで調整)) で生育させたコリネバクテリウム・サーモアミノゲネス野生株であるAJ12310株の菌体を、下記組成のフラスコ用培地を20ml入れた500ml容フラスコに接種し、37℃で17時間（残糖が1g/dl程度になるまで）培養した。

同様に、CM-2B寒天培地で生育させたブレビバクテリウム・ラクトファーメンタム2256株（ATCC13869）の菌体を31.5℃で17時間培養した。

〔フラスコ用培地〕

| | | |
|---|------|------------|
| グルコース | 3 | g/dl |
| KH ₂ PO ₄ | 0.1 | g/dl |
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | 0.04 | g/dl |
| FeSO ₄ ·7H ₂ O | 1 | mg/dl |
| MnSO ₄ ·4H ₂ O | 1 | mg/dl |
| ビタミンB1-HCl | 200 | μg/L |
| ビオチン | 50 | μg/L |
| (NH ₄) ₂ SO ₄ | 1.5 | g/dl |
| 大豆蛋白加水分解液 | 48 | mg/dl |
| (Memeno(T-N)) | | |
| CaCO ₃ (局方) | 5 | g/dl (別殺菌) |
| pH 8.0 (KOHで調整) | | |

上記培養液約 1 ml を 1000rpm で 1 分遠心して CaCO₃ を除去した後、菌体を 200mM K-リン酸緩衝液 (pH6.9) で 2 回洗浄し、同緩衝液 300 μl に懸濁させた。得られた菌体懸濁液を 5 分間超音波処理して菌体を破碎した後、1000rpm で 30 分遠心し、上清を粗酵素液として得た。

上記粗酵素液を用いて GDH 活性の至適反応温度及び熱安定性を調べた。GDH 活性の測定は、反応液 (100mM Tris-HCl (pH8.0)、20mM NH₄Cl、10mM α-ケトグルタル酸ナトリウム、0.25mM NADPH) に粗酵素液を加え、340nm における吸光度の変化を測定することによって行った。また、粗酵素液のタンパク質濃度を、Bradford 法 (Bio-Rad Protein Assay Kit を使用) により、ウシ血清アルブミンを標準として、595nm での吸光度を測定することによって定量した。吸光度の測定は、HITACHI U-2000 (日立製作所製) を用いて行った。

種々の反応温度で測定した GDH 活性を、図 1 に示す。ATCC13869 株では、37℃ 付近で最も GDH の比活性が高く、42℃ 付近で活性が著しく低下するのに対し、AJ123 10 株では 42℃ 付近で最も比活性が高く、45℃ でも活性を示した。

次に、GDH の熱安定性を調べた。反応前に、粗酵素液を 0 ～ 30 分間 65℃ におい

た後、30℃における酵素活性を測定した。その結果を図2に示す。この結果から明らかなように、ATCC13869株のGDHは5分間の熱処理で失活したのに対し、AJ12310株のGDHは30分間の熱処理でも活性が維持された。尚、AJ12310株の粗酵素液は、少なくとも65℃、90分の熱処理後にもGDH活性にほとんど変化が認められなかった（データは示さない）。

<2> コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスのCS活性の検討

実施例1と同様にコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株の菌体及びブレビバクテリウム・ラクトファーマンタムATCC13869株から調製した粗酵素液を用いて、CSの反応至適温度及び熱安定性を調べた。CS活性の測定は、反応液（100mM Tris-HCl (pH 8.0), 0.1mM DTNB (5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)), 200mM L-グルタミン酸ナトリウム、0.3mM アセチルCo-A）に粗酵素液を加え、412nmにおける吸光度の変化を測定することによって行った。

種々の反応温度で測定したCS活性を、図3に示す。ATCC13869株では23℃付近で最もCSの比活性が高く、33℃付近で活性が著しく低下するのに対し、AJ12310株では37℃付近までは反応温度に依存して高い比活性を示し、40℃でも37℃における活性の約4割の活性を示した。

次に、CSの熱安定性を調べた。反応前に、粗酵素液を33～55℃で5分間おいた後、30℃における酵素活性を測定した。その結果を図4に示す。ATCC13869株のCSは35～40℃の熱処理で失活したのに対し、AJ12310株のCSは50℃の熱処理でも約4割の活性が維持された。

<3> コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスのgdh遺伝子の取得

すでに報告されている種々の微生物のgdh遺伝子の塩基配列の比較を行った。そして、塩基配列がよく保存されている領域を見出し、その領域の塩基配列に基づいて配列番号77及び78に示す塩基配列を有するプライマーを作製した。

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株からBacterial Genome DNA Purification Kit (Advanced Genetic Technologies社製)を用いて調製した染色体DNAを鋳型とし、前記プライマーを用いてPCRを行った。得られたDNA断片をもとに、TaKaRa LA PCR in vitro Cloning Kit (宝酒造(株)製)を用いてゲノ

ムウォーキングを行い、gdh遺伝子全体を取得し、全塩基配列を決定した。結果を配列番号79に示す。また、この塩基配列から予想されるアミノ酸配列を配列番号80に示す。

同様にして、ブレビバクテリウム・ラクトファーマメンタムATCC13869株のgdh遺伝子を取得し、塩基配列を決定した。結果を配列番号81に示す。また同塩基配列によってコードされるアミノ酸配列を配列番号82に示す。

上記のようにして決定されたコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株とブレビバクテリウム・ラクトファーマメンタムATCC 13869株のgdh遺伝子の塩基配列及びGDHのアミノ酸配列と、公知のコリネバクテリウム・グルタミカム (*C. glutamicum*) ATCC13032株のgdh遺伝子及びGDHのアミノ酸配列 (Molecular Microbiology (1992) 6, 317-326) との相同性を調べた。結果を表8 (塩基配列) 及び表9 (アミノ酸配列) に示す。

表8 各種gdh遺伝子の塩基配列の相同性

| | ATCC13869 | ATCC13032 | AJ12310 |
|-----------|-----------|-----------|---------|
| ATCC13869 | — | 94.5% | 82.4% |
| ATCC13032 | — | — | 78.1% |
| AJ12310 | — | — | — |

表9 各種GDHのアミノ酸配列の相同性

| | ATCC13869 | ATCC13032 | AJ12310 |
|-----------|-----------|-----------|---------|
| ATCC13869 | — | 90.8% | 91.7% |
| ATCC13032 | — | — | 83.4% |
| AJ12310 | — | — | — |

<4>コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスのgltA遺伝子の取得

すでに報告されている種々の微生物のgltA遺伝子の塩基配列の比較を行った。そして、塩基配列がよく保存されている領域を見出し、その領域の塩基配列の基

づいて配列番号 8 3 及び 8 4 に示す塩基配列を有するプライマーを作製した。

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株 (FERM BP-1542) から Bacterial Genome DNA Purification Kit (Advanced Genetic Technologies社製) を用いて調製した染色体DNAを鋳型とし、前記プライマー 7、8 を用いてPCRを行い、増幅した約0.9kbの塩基配列を決定した。

得られたコリネバクテリウム・グルタミカムのgltA遺伝子の塩基配列 (Microbiol., 140, 1817-1828 (1994)) をもとに、配列番号 8 5、8 6、8 7、及び 8 8 のプライマーを作成し、上記と同様にAJ12310の染色体DNAを鋳型にし、配列番号 8 5、8 6、8 7、及び 8 8 のプライマーを用いてPCRを行い、増幅したDNA断片の塩基配列を決定し、gltA遺伝子全体の全塩基配列を決定した。結果を配列番号 8 9 に示す。また、この塩基配列から予想されるアミノ酸配列を配列番号 9 0 に示す。

同様にして、プレビバクテリウム・ラクトファーメンタム2256株のgltA遺伝子を取得し、塩基配列を決定した。結果を配列番号 9 1 に示す。また同塩基配列によってコードされるアミノ酸配列を配列番号 9 2 に示す。

上記のようにして決定されたコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株とプレビバクテリウム・ラクトファーメンタムATCC13869株のgltA遺伝子の塩基配列及びCSのアミノ酸配列と、公知のコリネバクテリウム・グルタミカム (Microbiol., 140, 1817-1828 (1994)) ATCC13032株のgltA遺伝子及びCSのアミノ酸配列との相同性を調べた。結果を表 1 0 (塩基配列) 及び表 1 1 (アミノ酸配列) に示す。

表 1 0 各種gltA遺伝子の塩基配列の相同性

| | ATCC13869 | ATCC13032 | AJ12310 |
|-----------|-----------|-----------|---------|
| ATCC13869 | — | 99.5% | 85.7% |
| ATCC13032 | — | — | 85.6% |
| AJ12310 | — | — | — |

表 1 1 各種CSのアミノ酸配列の相同性

| | ATCC13869 | ATCC13032 | AJ12310 |
|-----------|-----------|-----------|---------|
| ATCC13869 | — | 99.3% | 92.1% |
| ATCC13032 | — | — | 92.1% |
| AJ12310 | — | — | — |

実施例 3 コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスのscrB遺伝子の取得

実施例 1 に示したように、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12309株からscrB遺伝子断片が得られたので、同遺伝子の全配列の取得を行った。まず、実施例 1 と同様にして、配列番号 4 5 及び配列番号 4 6 に示すプライマーを用いて部分断片の取得を行った。これらのプライマーは、ブレビバクテリウム・ラクトファーマメンタム2256株のscrB配列（特開平08-196280）をもとに合成した。

一方、AJ12309株からBacterial Genome DNA Purification Kit(Advanced Genetic Technologies Corp.)を用いて染色体を調製した。この染色体DNAを0.5 μ g、前記プライマーを各々50pmol、dNTP mixture（各2.5mM）4 μ l、10 \times Z-Taq Buffer（宝酒造）5 μ l、Z-Taq 2U（宝酒造）に滅菌水を加えて全量50 μ lのPCR反応液を調製した。この反応液を用いて、サーマルサイクラーGeneAmp PCR System 9600（PE）を使用して、変性98 $^{\circ}$ C 5秒、会合50 $^{\circ}$ C 10秒、伸長反応72 $^{\circ}$ C 20秒の条件で30サイクルのPCRを行い、scrBの部分断片約600bpを増幅した。

次にLA PCR in vitro Cloning Kit（宝酒造）を用いてscrB全配列を決定した。方法はすべて、LA PCR in vitro Cloning Kitに従った。取得した部分配列をもとに、配列番号 9 7、9 8、9 9、1 0 0 に示すプライマーを合成した。上流部分の配列決定のための1回目のPCR反応は、配列番号 9 5、9 7 に示すプライマーを、鋳型DNAとしてEcoT14Iで処理したAJ12309株染色体DNAを用いた。2回目のPCR反応は、配列番号 9 6、9 8 に示すプライマーを用いた。下流部分の配列決定のための1回目のPCR反応は、配列番号 9 5、9 9 に示すプライマーを、鋳型DNAとしてSalI（宝酒造）で処理したAJ12309株染色体DNAを用いた。2回目のPCR

反応は、配列番号 9 6、1 0 0 に示すプライマーを用いた。以上の操作から、scrB の ORF を含む全長 1656bp の配列を決定した。この塩基配列を配列番号 9 3 に、アミノ酸配列を配列番号 9 4 に示す。

実施例 4 イソシトレートリアーゼ、ホスホフルクトキナーゼ、ホスホエノール
ピルビン酸カルボキシラーゼ、アコニターゼ、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ、
2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼの熱安定性の検討

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス由来の下記の酵素について、熱安定性を調べた。尚、本実施例では、タンパク質濃度は、Bradford法 (Bio-Rad Protein Assay Kit を使用) により、標準タンパク質に牛血清アルブミンを用いて測定した。また、吸光度の測定は、特記しない限り HITACHI U-2000 (日立製作所) を用いて行った。

< 1 > イソシトレートリアーゼ

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310 株由来 イソシトレートリアーゼ (以下、「ICL」ともいう) とブレビバクテリウム・ラクトファーマンタム 256 株 (ATCC13869) 由来 ICL の活性の熱安定性を調べた。活性測定には、表 1 2 に示した培地にて完全に糖を消費し尽くす前に培養を終了させた菌体を用いた。活性測定方法は、Dieter J. Reinscheid et al., J. Bacteriol., 176(12), 3474 (1994) に従った。具体的には、菌体を 50mM トリス緩衝液 (pH7.3) にて洗浄後、同バッファーに懸濁し、超音波破碎 (KUBOTA 社製 INSONATOR201M を使用、200W、5分) を行った。超音波破碎後、遠心分離 (13000×g、30分) を行い、未破碎菌体を取り除いたものを粗酵素液とした。

50mM MOPS-NaOH (pH7.3)、5mM ジチオスレイトール、15mM MgCl₂、1mM EDTA、5mM D-threo-isocitrate、0.2mM NADH、18U LDH (ラクテートデヒドロゲナーゼ) を含む反応系に粗酵素液を添加し、各温度 (30、40、50、60、70℃) における 340nm の吸収を日立分光光度計 U-3210 にて測定した。反応温度を変化させた測定結果を図 5 に示す。また、粗酵素液を 50℃ にて前処理 (前処理時間 5 分、又は 15 分) し、37℃ における活性を測定した結果を図 6 に示す。

その結果、2256株のICLは50℃近辺に最大活性を示すのに対し、AJ12310株のICLは60℃で最大活性を示した。また、2256株のICLは前処理時間5分で完全に失活しているのに対し、AJ12310株のICLは前処理時間5分では約半分の活性を維持していたことから、AJ12310株のICLの高温での安定性が確認された。

表 1 2 ICL活性測定用培地組成

| 成分 | 濃度 |
|---|---------|
| (NH ₄) ₂ SO ₄ | 5g/l |
| Urea | 5g/l |
| KH ₂ PO ₄ | 0.5g/l |
| K ₂ HPO ₄ | 0.5g/l |
| MOPS | 20.9g/l |
| MgSO ₄ ・7H ₂ O | 0.25g/l |
| CaCl ₂ ・7H ₂ O | 10mM |
| CuSO ₄ ・7H ₂ O | 0.2mg/l |
| ビオチン | 0.2mg/l |
| MnSO ₄ ・7H ₂ O | 10mg/l |
| FeSO ₄ ・7H ₂ O | 10mg/l |
| ZnSO ₄ ・7H ₂ O | 1mg/l |
| 酢酸 | 4% |

< 2 > ホスホフルクトキナーゼ

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310株由来ホスホフルクトキナーゼ（以下、「PFK」ともいう）とブレヴィバクテリウム・ラクトファーマンタム2256株由来PFKの活性の熱安定性について調べた。活性測定には、表 1 3 に示した培地にて完全に糖を消費し尽くす前に培養を終了させた菌体を用いた。活性測定方法は、Michiko Mori et al., Agric. Biol. Chem., 51(10), 2671 (1994)) に従った。具体的には、菌体を0.1M トリス緩衝液 (pH7.5) にて洗浄後、同緩衝液に懸濁し、超音波破碎 (KUBOTA社製 INSONATOR201Mを使用、200W、5分) を行った。超音波破碎後、遠心分離 (13000×g、30分) を行い、未破碎菌体を取り除いたものを粗酵素液とした。

100mM トリス緩衝液 (pH7.5)、0.2mM NADH、10mM MgCl₂、2mM NH₄Cl、10mM KC

1、0.2mM ホスホエノールビルビン酸、6.4mM フルクトース 6 リン酸、1mM ATP、40 μ g LDH/PK（ビルビン酸キナーゼ）を含む反応系に粗酵素液を添加し、各温度（30、40、50、60、70℃）における340nmの吸収を日立分光光度計U-3210にて測定した。反応温度を変化させた測定結果を図7に示す。また、粗酵素液を50℃にて前処理（前処理時間1、3、5、10分）し、37℃における活性を測定した結果を図8に示す。

以上の結果、2256株のPFKは30℃近辺で最大活性を示すことに対し、AJ12310株のPFKは50℃近辺で最大活性を示したことから、AJ12310のPFK株の至適温度は高温域にあることが確認された。

表 1 3 PFK活性測定用培地組成

| 成分 | 濃度 |
|---------|-------|
| ポリペプトン | 20g/l |
| 酵母エキス | 20g/l |
| 塩化ナトリウム | 5g/l |
| グルコース | 20g/l |

< 3 > ホスホエノールビルビン酸カルボキシラーゼ

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310株由来ホスホエノールビルビン酸カルボキシラーゼ（以下、「PEPC」ともいう）とブレビバクテリウム・ラクトファーマンタム2256株由来のPEPC活性の熱安定性について検討した。

CM-2B寒天培地で生育させたAJ12310株の菌体を、フラスコ用培地（グルコース 8g/dl、KH₂PO₄ 0.1g/dl、MgSO₄・7H₂O 0.04g/dl、FeSO₄・7H₂O 1mg/dl、MnSO₄・4H₂O 5mg/dl、(NH₄)₂SO₄ 3g/dl、TN（大豆タンパク質加水分解液） 48mg/dl、ビタミンB1 200 μ g/l、ビオチン 300 μ g/l、GD-113（消胞剤） 50 μ l/l、CaCO₃ 5g/dl（局方、別殺菌）、pH8.0（KOHで調整））を20ml入れた500ml容フラスコに接種し、37℃で培養した。同様に、CM-2B寒天培地で生育させた2256株の菌体を31.5℃で培養した。

対数増殖期まで生育させた上記培養液を1000rpmで1分間遠心してCaCO₃を除去した後、菌体を洗浄緩衝液（100mM Tris/HCl pH8.0、10mM MgSO₄、1mM DTT、20% glycerol）で3回洗浄、超音波で破碎し、15krpmで10分間遠心し破砕片を除去し、上清をさらに60krpmで1時間遠心し、上清を粗酵素液として得た。

上記粗酵素液を用いてPEPC活性の至適反応温度及び熱安定性を調べた。PEPC活性の測定は、反応液（100mM Tris/H₂SO₄(pH8.5)、5mM ホスホエノールピルビン酸、10mM KHCO₃、0.1mM acetyl-CoA、0.15mM NADH、10mM MgSO₄、10Uリンゴ酸脱水素酵素、0.1mM DTT）に粗酵素液を添加し、反応液量800μl中で340nmにおける吸光度の変化を測定することによって行った。

種々の反応温度で測定したPEPC活性を図9に示す。2256株では40℃で活性が著しく低下するのに対し、AJ12310株では40℃でも活性の低下はほとんど認められなかった。

次に、PEPCの熱安定性を調べた。反応前に、粗酵素液を0～20分間45℃においた後、20℃における酵素活性を測定した。その結果を図10に示す。この結果から明らかなように、2256株では10分間の熱処理後にはPEPC活性はほとんど失われてしまったが、AJ12310株では20分間の熱処理後でも活性は維持されていた。

これらの結果からAJ12310のPEPCの高温での安定性が示された。

< 4 > アコニターゼ

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310株由来アコニターゼ（以下、「ACN」ともいう）とブレビバクテリウム・ラクトファーマメンタム2256株由来ACNを測定し、その熱安定性について検討した。

CM-2B寒天培地で生育させたAJ12310株の菌体を、< 3 >と同じ組成のフラスコ用培地を20ml入れた500ml容フラスコに接種し、37℃で培養した。同様に、CM-2B寒天培地で生育させた2256株の菌体を31.5℃で培養した。

対数増殖期まで生育させた上記培養液を1000rpmで1分間遠心してCaCO₃を除去した後、菌体を50mM Tris/HCl pH7.5で3回洗浄、超音波で破碎し、15krpmで10分間遠心した上清を粗酵素液として得た。

上記粗酵素液を用いてACN活性の至適反応温度及び熱安定性を調べた。ACN活性

の測定は反応液 (20mM Tris/HCl(pH7.5)、50mM NaCl、20mM isocitrate·3Na) に粗酵素液を添加し反応液量800 μ l中で240nmにおける吸光度の変化を測定することによって行った。

種々の反応温度で測定したACN活性を図 1 1 に示す。AJ12310株はより高温において2256株よりも高い活性を示した。

次に、ACNの熱安定性を調べた。反応前に、粗酵素液を0～15分間50℃においた後、30℃における酵素活性を測定した。その結果を図 1 2 に示す。この結果から明らかなように、AJ12310株のACNは2256株のACNよりも熱処理による活性の低下が少なかった。

これらの結果からAJ12310のACNの高温での熱安定性が確認された。

< 5 > イソクエン酸デヒドロゲナーゼ

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310株由来イソクエン酸デヒドロゲナーゼ (以下、「ICDH」ともいう) とブレヴィバクテリウム・ラクトファーマンタム2256株由来ICDHの活性の熱安定性について検討した。

CM-2B寒天培地で生育させたAJ12310株の菌体を、< 3 >と同じ組成のフラスコ用培地を20ml入れた500ml容フラスコに接種し、37℃で培養した。同様に、CM-2B寒天培地で生育させた2256株の菌体を31.5℃で培養した。

対数増殖期まで生育させた上記培養液を1000rpmで1分間遠心してCaCO₃を除去した後、菌体を50mM Tris/HCl pH7.5で3回洗浄、超音波で破碎し、15krpmで10分間遠心した上清を粗酵素液として得た。

上記粗酵素液を用いてICDH活性の至適反応温度及び熱安定性を調べた。ICDH活性の測定は反応液 (35mM Tris/HCl、0.35mM EDTA (pH7.5)、1.5mM MnSO₄、0.1mM NADP、1.3mM isocitrate·3Na) に粗酵素液を添加し反応液量800 μ l中で340nmにおける吸光度の変化を測定することによって行った。

種々の反応温度で測定したICDH活性を図 1 3 に示す。2256株では70℃で活性が著しく低下するのに対し、AJ12310株では70℃でも活性の低下はほとんど認められなかった。

次に、ICDHの熱安定性を調べた。反応前に、粗酵素液を0～15分間45℃におい

た後、30℃における酵素活性を測定した。その結果を図14に示す。この結果から明らかなように、2256株では15分間の熱処理後には15%ほどのICDHの活性が残存するだけであったが、AJ12310株では約60%のICDHの活性が残存していた。

これらの結果から、AJ12310のICDHの高温での熱安定性が示された。

< 6 > 2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼ

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310株由来2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼ（以下、「ODHC」ともいう）とブレビバクテリウム・ラクトファーマメンタム2256株由来ODHCを測定し、その熱安定性について調べた。

活性測定には、表14に示した培地にて完全に糖を消費し尽くす前に培養を終了させた菌体を用いた。活性測定方法は、Isamu Shiio et al., Agric. Biol. Chem., 44(8), 1897 (1980)) に従った。具体的には、菌体を0.2% 塩化カリウムにて洗浄後、100mM TES-NaOH (pH7.5)、30% グルセロール溶液に懸濁し、超音波破碎（KUBOTA社製 INSONATOR201Mを使用、200W、5分）を行った。超音波破碎後、遠心分離（10000×g、30分）を行い、未破碎菌体を取り除いたものをSephadex-G25を用いて、同バッファーにてゲルろ過することによって調製したものを粗酵素液とした。

100mM TES-NaOH(pH7.7)、5mM MgCl₂、0.2mM Coenzyme A、0.3mM コカルボキシラーゼ、1mM α-ケトグルタル酸、3mM L-システイン、1mM アセチルピリジン-アデニン-ジヌクレオチドを含む反応系に粗酵素液を添加し、各温度（30、40、50、60、70℃）における365nmの吸収を日立分光光度計U-3210にて測定した。粗酵素液を50℃にて前処理（前処理時間1、3、5、10分）し、37℃における活性を測定した結果を図15に示す。

その結果、2256株のODHCは前処理時間10分で完全に失活しているのに対し、AJ12310のODHCは前処理時間に関係なく、ほぼ一定の活性を有しており、高温処理に対する安定性が確認された。

表 1 4 ODHC活性測定用培地組成

| 成分 | 濃度 |
|---|---------|
| グルコース | 80g/l |
| KH ₂ PO ₄ | 1g/l |
| MgSO ₄ ・7H ₂ O | 0.4g/l |
| FeSO ₄ ・7H ₂ O | 0.01g/l |
| MnSO ₄ ・7H ₂ O | 0.05g/l |
| (NH ₄) ₂ SO ₄ | 30g/l |
| 大豆蛋白加水分解物 | 480mg/l |
| サイアミン塩酸 | 200μg/l |
| ビオチン | 300μg/l |

実施例 5 scrB遺伝子導入によるシュークロース資化能の付与

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株は、インベルターゼ活性及びシュークロース資化性を持たないため、同株に、AJ12309株由来のscrB遺伝子を導入することによってシュークロースに対する資化能を付与できるのかを調べた。

< 1 > コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12309株由来scrB搭載プラスミドの作製

scrB遺伝子断片を取得するために、配列番号 9 3 に示す塩基配列をもとに、両端にSmaI配列を連結した配列番号 1 0 1、1 0 2 に示すプライマーを合成した。AJ12309株染色体DNAを0.5μg、前記オリゴヌクレオチドを各々50pmol、dNTP mixture (各2.5mM) 4μl、10× Pyrobest Buffer (宝酒造) 5μl、Pyrobest polymerase 2U (宝酒造) に滅菌水を加えて全量50μlのPCR反応液を調製した。この反応液を用いて、サーマルサイクラーGeneAmp PCR System 9600 (PE) を使用して、変性98℃ 10秒、会合55℃ 30秒、伸長反応72℃ 2分の条件で30サイクルのPCRを行い、scrB ORFを含む約1.7kbを増幅した。

次に、上記の増幅断片をSmaI (宝酒造) にて消化し、脱リン酸化処理したコリネ型細菌で機能する複製起点を搭載したプラスミドpSAC4をSmaIで切断したもの

と連結し、pSCR155を作製した。pSCR155の構築を図16に示す。なおpSAC4は、以下のようにして作製した。エシェリヒア・コリ用ベクターpHSG399（宝酒造(株)）をコリネ型細菌で自律複製可能にするために、既を取得されているコリネ型細菌で自律複製可能なプラスミドpHM1519(Miwa, k. et al., Agric. Biol. Chem., 48 (1984) 2901-2903)由来の複製起点（特開平5-7491号公報）を導入した。具体的には、pHM1519を制限酵素BamHIおよびKpnIで消化し、複製起点を含む遺伝子断片を取得し、得られた断片を宝酒造(株)製Blunting kitを用いて平滑末端化した後、Sallリンカー（宝酒造(株)製）を用いて、pHSG399のSallサイトに挿入し、pSAC4を得た。

< 2 > AJ12310株へのscrB遺伝子搭載プラスミドの導入

上記で作製したpSCR155、及び、ブレビバクテリウム・ラクトファーマンタム由来scrB遺伝子を搭載したプラスミドpSSM30BS（特開平08-196280号）を、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株に導入した。形質転換は、以下の手順で行った。菌体を、20%シュクロースを含むCM-2B培地に $OD_{660}=0.1$ となるように接種し、 $OD_{660}=0.3$ まで37°Cで振盪培養した後、100 μ g/mlになるようにリゾチームを添加し、さらに2時間培養した。菌体を20%シュクロースで3回洗浄後、20%シュクロースに懸濁し、エシェリヒア・コリJM110から回収したプラスミドを加えよく混合し、電気パルス（18KV/cm 300msec）をかけ、DNAを導入した。20%シュクロースを含むCM-2B培地で一晚回復培養を行なった後、クロラムフェニコール5 μ g/mlを含むCM-2B寒天培地で形質転換体を選択した。具体的には、電気パルス法（特開平12-204236号）を用い、形質転換体の選択は5 μ g/mlのクロラムフェニコールを含むCM2Bプレート培地で、37°Cにて行なった。その結果、ブレビバクテリウム・ラクトファーマンタム由来scrB搭載プラスミドpSSM30BSを保持する形質転換体は得られず、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス由来scrBを搭載したプラスミドpSCR155を保持する形質転換体のみが取得出来た。この株をAJ12310/pSCR155と命名した。

< 3 > AJ12310/pSCR155株のシュクロースを糖源とする培養評価

上記で作製したAJ12310/pSCR155を、表15に示す組成の培地に接種し、37°C

にて22時間振とう培養した。培養後の培地の吸光度（OD）及び残糖（RS）を測定した結果を表16に示す。その結果、AJ12310株は、シュークロースを資化出来ず、生育が不能であるのに対し、scrB遺伝子導入株AJ12310/pSCR155株はシュークロースを資化出来るようになったことが確認された。

表15 培地組成

| 培地組成 | 濃度 |
|---|---------|
| シュークロース | 60g/l |
| KH ₂ PO ₄ | 1g/l |
| MgSO ₄ ・7H ₂ O | 0.4g/l |
| FeSO ₄ ・7H ₂ O | 0.01/l |
| MnSO ₄ ・7H ₂ O | 0.01g/l |
| (NH ₄) ₂ SO ₄ | 30g/l |
| 大豆蛋白加水分解物 | 480mg/l |
| サイアミン塩酸塩 | 200μg/l |
| ビオチン | 300μg/l |

表16 シュークロース培養結果

| | OD(×51) | RS(g/l) |
|-----------------|---------|---------|
| 2256 | 1.292 | 0.00 |
| AJ12310 | 0.058 | 60.00 |
| AJ12310/pSCR155 | 1.571 | 0.84 |

実施例6 pdhA遺伝子増幅株によるL-グルタミン酸生産

<1> 由来pdhA搭載プラスミドpPDHA-2の構築

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株のpdhA遺伝子は、プラスミドライブラリのスクリーニングにより取得した。具体的には、プラスミドライブラリ混合物を鋳型として、実施例1の表4に示した条件にてPCRを行い、染色体DNAを鋳型とするPCRと同じ大きさのDNA断片が増幅されるクローンp21Aを選択

した。このプラスミドのDNA配列を決定することによりpdhAの全長が含まれていることを確認した。

p21AをXbaI、KpnIで消化し、pdhA遺伝子の全長とプロモーター領域を含む4kbのDNA断片を切り出した。このpdhA遺伝子を含むDNA断片を、pHSG299（宝酒造）のXbaI、KpnIサイトに挿入した。次にこのプラスミドをXbaIで消化し、pXK4をXbaIで処理した断片を挿入してpPDHA-2を作成した。pPDHA-2の構築の過程を図17に示す。ライゲーション反応はDNA Ligation Kit Ver.2（宝酒造）を、遺伝子操作の宿主にはエシェリヒア・コリJM109株（宝酒造）を用いた。尚、前記pXK4は、以下のようにして作製した。コリネ型細菌とエシェリヒア・コリのシャトルベクターpHK4（特開平5-7491号）を制限酵素BamHI、KpnIで消化して、複製起点を持つDNA断片を取得して、得られた断片をDNA平滑末端化キット（宝酒造社製、Blunting Kit）を用いて平滑末端化したあと、XbaIリンカー（宝酒造社製）を結合し、pHSG299のXbaIサイトに挿入し、プラスミドpXK4を得た。

< 2 > AJ12310株へのpdhA遺伝子搭載プラスミドの導入

上記で作製したプラスミドpPDHA-2をコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株に導入し、pdhA遺伝子増幅株を作製した。形質転換は実施例5と同様に行い、形質転換体はカナマイシン25 μ g/mlを含むCM-2B寒天培地で選択し、AJ12310/pPDHA-2株を取得した。

< 3 > pdhA増幅株によるL-グルタミン酸生産

CM-2B寒天培地で生育させたAJ12310株、及び上記で取得したpdhA遺伝子増幅株AJ12310/pPDHA-2株を、表17に示す種培養フラスコ用培地を20ml入れた500ml容フラスコに接種し、37°Cでグルコースを完全消費するまで振盪培養した。この培養液を、表17に示す本培養フラスコ用培地を20ml入れた500ml容フラスコに2ml接種し、37°C及び44°Cにおいて本培養を行なった。本培養はグルコースを完全消費するまで行い、培養終了後、培養液のOD₆₂₀及びL-グルタミン酸の蓄積量を測定し、遺伝子増幅による菌体形成及びグルタミン酸の生産に対する効果を検討した。ODの測定は分光光度計HITACHI U-2000（日立製作所）を、L-グルタミン酸濃度の測定はグルタミン酸アナライザーAS-210（旭化成）を用いた。結果を図

18に示す。

pdhA遺伝子増幅株AJ12310/pPDHA-2株では、AJ12310株に比べ、L-グルタミン酸蓄積、ODともに上昇し、pdhA遺伝子の増幅がL-グルタミン酸生産に有効であることが明らかとなった。

表 17 pdhA増幅株評価培地

| 培地組成 | 種培養 | 本培養 |
|---|---------|---------|
| グルコース | 30g/l | 60g/l |
| KH ₂ PO ₄ | 1g/l | 1g/l |
| MgSO ₄ ・7H ₂ O | 0.4g/l | 0.4g/l |
| FeSO ₄ ・7H ₂ O | 0.01g/l | 0.01g/l |
| MnSO ₄ ・7H ₂ O | 0.01g/l | 0.01g/l |
| (NH ₄) ₂ SO ₄ | 15g/l | 30g/l |
| 大豆蛋白加水分解物 | 480mg/l | 480mg/l |
| サイアミン塩酸塩 | 200μg/l | 200μg/l |
| ビオチン | 10μg/l | |
| AZ-20R (消泡剤) | 20μl/l | 20μl/l |
| CaCO ₃ (別殺菌) | 50g/L | 50g/L |
| pH8.0(KOHで調整) | | |

実施例 7 icd遺伝子増幅株によるL-グルタミン酸生産

<1> コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310株由来icd搭載プラスミドpICD-4の構築

配列番号29記載のAJ12310株のicd遺伝子配列をもとに、配列番号103及び配列番号104に示すプライマーを合成した。この両プライマーの5'端にはBglI Iサイトを導入した。一方、Genomic DNA Purif. Kit (Edge BioSystems社)を用いて、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株のゲノムDNAを調製した。このゲノムDNAを鋳型として、上記プライマーをそれぞれ100pmol、dNTP mixture (各2.5mM) 8μl、10× Pyrobest Buffer II (宝酒造) 10μl、Pyrobest DNA polymerase (宝酒造) 2.5Uに滅菌水を加えて全量100μlのPCR反応液を調製した。この反応液を用いて、サーマルサイクラーTP240 (宝酒造) を使用して、変性98℃ 10秒、会合55℃ 1分、伸長反応72℃ 4分の条件で30サイクルのPCRを行

い、*icd*遺伝子及びそのプロモーターを含む3.3kbのDNA断片を増幅した。

この*icd*遺伝子を含むDNA断片をBglIIで処理し、pHSG299（宝酒造）のBamHIサイトに挿入した。次にこのプラスミドをXbaIで処理し、pXK4をXbaIで処理した断片を挿入してpICD-4を構築した。pICD-4の作製の手順は図19に示す。ライゲーション反応は、DNA Ligation Kit Ver.2（宝酒造）を、遺伝子操作の宿主にはエシェリヒア・コリJM109株（宝酒造）を用いた。

< 2 > AJ12310株への*icd*遺伝子搭載プラスミドの導入

上記で作製したプラスミドpICD-4を、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株に導入し、*icd*遺伝子増幅株を作製した。形質転換は、実施例5と同様に行い、形質転換体は、カナマイシン25 μ g/mlを含むCM-2B寒天培地で選択し、AJ12310/pICD-4株を取得した。

< 3 > *icd*増幅株によるL-グルタミン酸生産

AJ12310株、およびその*icd*増幅株であるAJ12310/pICDについて、実施例6記載の培養方法により培養評価を行った。結果を図20に示す。*icd*遺伝子増幅株AJ12310/pICD-4株では、野生株AJ12310株に比べ、L-グルタミン酸蓄積、ODともに上昇し、*icd*遺伝子の増幅はグルタミン酸生産に有効であることが示された。

実施例8 *gdh*遺伝子増幅株によるL-グルタミン酸生産

< 1 > コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310株由来の*gdh*遺伝子搭載プラスミドの作製

配列番号79に記載のAJ12310株の*gdh*遺伝子の配列をもとに、配列番号105および配列番号106に示すプライマーを合成した。

一方、Bacterial Genome DNA Purification Kit (Advanced Genetic Technologies Corp.) を用いてAJ12310の染色体DNAを調製した。この染色体DNAを0.5 μ g、前記オリゴヌクレオチドをそれぞれ10pmol、dNTP mixture(各2.5mM)8 μ l、10 \times LA Taq Buffer（宝酒造）5 μ l、LA Taq（宝酒造）2Uに滅菌水を加えて全量50 μ lのPCR反応液を調製した。この反応液を用いて、サーマルサイクラーTP240（宝酒造）を使用して、変性94 $^{\circ}$ C 30秒、会合55 $^{\circ}$ C 1秒、伸長反応72 $^{\circ}$ C 3分の条件で30

サイクルのPCRを行ない、gdh遺伝子およびそのプロモーターを含む約2KbpのDNA断片を増幅した。得られた増幅断片をPstI（宝酒造社製）で消化し、これとpHSG299（宝酒造）をPstIで完全分解したものを混合し連結した。連結反応は宝酒造社製 DNA ligation kit ver2にて行なった。連結した後、エシェリヒア・コリJM109のコンピテントセル（宝酒造社製）を用いて形質転換を行い、IPTG（イソプロピル- β -D-チオガラクトピラノシド）10 μ g/ml、X-Gal（5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリル- β -D-ガラクトシド）40 μ g/ml及びクロラムフェニコール40 μ g/mlを含むL培地（バクトトリプトン10g/l、バクトイーストエキストラクト5g/l、NaCl 5g/l、寒天15g/l、pH7.2）に塗布し、一晚培養後、出現した白色のコロニーを釣り上げ、単コロニー分離し、形質転換株を得た。

形質転換株からアルカリ法（生物工学実験書、日本生物工学会編、105頁、培風館、1992年）を用いてプラスミドを調製し、制限酵素地図を作成し、図21に示す制限酵素地図と同等であるものをpHSG299YGDHと名付けた。

このpHSG299YGDHにコリネ型細菌で機能する複製起点を導入した。具体的には、pXC4を制限酵素XbaIにて消化し、pHM1519由来の複製起点を含む断片を取得し、pHSG299YGDHをXbaIで完全分解したものと混合し連結した。上記と同様の方法でプラスミドを調製し、図21に示す制限酵素地図と同等であるものをpYGDHと名付けた。尚、pXC4は、pHSG299の代わりにpHSG399（Cm^r）を用いた以外は、実施例6に記載したpXK4と同様にして構築した。

< 2 > AJ12310株へのgdh遺伝子搭載プラスミドの導入

上記で作製したプラスミドを、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株に導入し、gdh遺伝子増幅株を作製した。形質転換は、実施例5と同様に行い、形質転換体はカナマイシン25 μ g/mlを含むCM-2B寒天培地で、31℃にて選択し、AJ12310/pYGDHを取得した。

< 3 > gdh増幅株によるL-グルタミン酸生産

CM-2B寒天培地で生育させたAJ12310株及び上記で取得したgdh遺伝子増幅株AJ12310/pYGDH株を、表18に示す種培養フラスコ用培地を20ml入れた500ml容フラスコに接種し、37℃でグルコースを完全消費するまで振盪培養した。この培養液

を、表 1 9 に示す本培養フラスコ用培地を20ml入れた500ml容フラスコに2ml接種し、37℃及び44℃において本培養を行なった。本培養はグルコースを完全消費するまで行い、培養終了後、培養液のOD₆₂₀及びL-グルタミン酸の蓄積量を測定し、遺伝子増幅による菌体形成及びグルタミン酸の生産に対する効果を検討した。ODの測定は分光光度計HITACHI U-2000（日立製作所）を、L-グルタミン酸濃度の測定はグルタミン酸アナライザーAS-210（旭化成）を用いた。

表 1 8 種培養培地組成

| 培地組成 | 濃度 |
|--------------------------------------|-----------|
| グルコース | 30 g/l |
| 硫安 | 15 g/l |
| KH ₂ PO ₄ | 1 g/l |
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | 0.4 g/l |
| FeSO ₄ ·7H ₂ O | 0.01 g/l |
| MnSO ₄ ·5H ₂ O | 0.01 g/l |
| 大豆蛋白加水分解物 | 0.48 g/l |
| サイアミン塩酸塩 | 200 ug/l |
| ビオチン | 10 ug/l |
| AZ20R | 0.02 ml/l |
| CaCO ₃ （別殺菌） | 1 g/L |
| pH8.0(KOH) | |

表 1 9 本培養培地組成

| 培地組成 | 濃度 |
|--------------------------------------|-----------|
| グルコース | 60 g/l |
| 硫安 | 30 g/l |
| KH ₂ PO ₄ | 1 g/l |
| MgSO ₄ ・7H ₂ O | 0.4 g/l |
| FeSO ₄ ・7H ₂ O | 0.01 g/l |
| MnSO ₄ ・5H ₂ O | 0.01 g/l |
| 大豆蛋白加水分解物 | 0.48 g/l |
| サイアミン塩酸塩 | 200 ug/l |
| AZ20R | 0.02 ml/l |
| CaCO ₃ (別殺菌) | 1 g/L |
| pH8.0(KOH) | |

培養結果を表 2 0、表 2 1 に示す。37℃では、gdh増幅株は、糖消費速度が、親株のAJ12310株と比較して速く、生育も良く、到達ODが上昇した。またL-グルタミン酸蓄積に関しても、収率に関しても37℃では3～5%と大幅に向上した。44℃においても収率が向上し、また到達ODも上昇した。一方、gdh増幅株では副生物である α -ケトグルタル酸の蓄積が減少していることが確認された。これらの結果から、gdhの増幅がL-グルタミン酸収率の向上および副生物の低減に有効であることが示された。

表 2 0 gdh増幅株の培養結果 (37℃)

| | OD ₆₂₀ (51×) | L-Glu蓄積 (g/dl) | L-Glu収率 (%) | α -KG (mg/dl) |
|---------------|----------------------------|-------------------|----------------|-------------------------|
| AJ12310 | 0.58 | 1.74 | 30.7 | 53.9 |
| AJ12310/pYGDH | 0.65 | 2.23 | 39.3 | 4.1 |

表 2 1 gdh増幅株の培養結果 (44℃)

| | OD ₆₂₀ (51×) | L-Glu蓄積 (g/dl) | L-Glu収率 (%) |
|---------------|----------------------------|-------------------|----------------|
| AJ12310 | 0.63 | 1.70 | 26.7 |
| AJ12310/pYGDH | 0.71 | 1.79 | 27.8 |

実施例 9 gltA遺伝子増幅株によるL-グルタミン酸生産

< 1 > コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス由来gltA遺伝子搭載プラスミドの作製

配列番号 8 9 記載のAJ12310株由来のgltA遺伝子の配列をもとに、配列番号 1 0 7 および配列番号 1 0 8 に示すプライマーを合成した。

一方、Bacterial Genome DNA Purification Kit(Advanced Genetic Technologies Corp.)を用いてコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310の染色体DNAを調製した。この染色体DNAを0.5 μ g、前記オリゴヌクレオチドをそれぞれ10p mol、dNTP mixture(各2.5mM)8 μ l、10 \times Pyrobest- Taq Buffer (宝酒造) 10 μ l、Pyrobest Taq (宝酒造) 2Uに滅菌水を加えて全量100 μ lのPCR反応液を調製した。この反応液を用いて、サーマルサイクラーTP240 (宝酒造) を使用して、変性94 $^{\circ}$ C 30秒、会合 45 $^{\circ}$ C 30秒、伸長反応72 $^{\circ}$ C 3分の条件で30サイクルのPCRを行ない、gltA遺伝子およびそのプロモーターを含む約2KbpのDNA断片を増幅した。得られた増幅断片をKpnI (宝酒造) で消化し、これとpHSG299 (宝酒造) をKpnIで完全分解したものを混合し連結した。連結反応は宝酒造社製 DNA ligation kit ver2 にて行なった。連結した後、エシェリヒア・コリJM109のコンピテントセル (宝酒造社製) を用いて形質転換を行い、IPTG (イソプロピル- β -D-チオガラクトピラノシド) 10 μ g/ml、X-Gal (5-ブromo-4-クロロ-3-インドリル- β -D-ガラクトシド) 40 μ g/ml及びクロラムフェニコール40 μ g/mlを含むL培地 (バクトトリブトン10g/l、バクトイーストエキストラクト5g/l、NaCl 5g/l、寒天15g/l、pH7.2) に塗布し、一晚培養後、出現した白色のコロニーを釣り上げ、単コロニー分離し、形質転換株を得た。

形質転換株からアルカリ法（生物工学実験書、日本生物工学会編、105頁、培風館、1992年）を用いてプラスミドを調製し、制限酵素地図を作成し、図22に示す制限酵素地図と同等であるものをpHSG299YCSと名付けた。

このpHSG299YCSにコリネ型細菌内で複製出来る複製起点を導入した。具体的には、pXC4を制限酵素XbaIにて消化し、pHM1519の複製起点を含むDNA断片を取得し、pHSG299YCSをXbaIで完全分解したものと混合、連結した。上記と同様の方法でプラスミドを調製し、図22に示す制限酵素地図と同等であるものをpYCSと名付けた。

< 2 > AJ12310株へのgltA遺伝子搭載プラスミドの導入

上記で作製したプラスミドを、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株を導入し、gltA遺伝子増幅株を作製した。形質転換は、実施例5と同様に行い、形質転換体の選択は25 μ g/mlのカナマイシンを含むCM2B寒天培地で、31 $^{\circ}$ Cにて選択し、AJ12310/pYCSを取得した。

< 3 > gltA増幅株によるL-グルタミン酸生産

CM-2B寒天培地で生育させたAJ12310株及び上記で取得したgltA遺伝子増幅株AJ12310/pYCS株を、実施例8と同様にして培養した。培養結果を表22、表23に示す。CS増強株では、37 $^{\circ}$ C、44 $^{\circ}$ Cいずれの培養温度においても、親株よりL-グルタミン酸蓄積が向上していることが確認された。また、gltA増幅株はオキサロ酢酸から合成されるL-アスパラギン酸、L-リジンが減少していた。

以上の結果から、gltAの増幅がL-グルタミン酸の収率向上および副生物低減に有効であることが示された。

表22 gltA増幅株の培養結果（37 $^{\circ}$ C）

| | L-Glu蓄積 (g/dl) | 収率 (%) | L-Asp蓄積 (mg/dl) | L-lys蓄積 (mg/dl) |
|--------------|-------------------|-----------|--------------------|--------------------|
| AJ12310 | 1.79 | 31.9 | 11.8 | 11.0 |
| AJ12310/pYCS | 2.04 | 36.5 | 8.1 | 7.3 |

表 2 3 gltA増幅株の培養結果 (44°C)

| | OD | L-Glu蓄積 (g/dl) | 収率 (%) | L-Asp蓄積 (mg/dl) | L-lys蓄積 (mg/dl) |
|--------------|------|-------------------|-----------|--------------------|--------------------|
| AJ12310 | 0.58 | 1.38 | 21.8 | 23.3 | 29.2 |
| AJ12310/pYCS | 0.65 | 1.84 | 28.8 | 14.1 | 17.2 |

〔配列表の説明〕

| | |
|-------------------------|--------|
| 配列番号 1 : aceA | 塩基配列 |
| 配列番号 2 : aceA | アミノ酸配列 |
| 配列番号 3 : accBC | 塩基配列 |
| 配列番号 4 : accBC | アミノ酸配列 |
| 配列番号 5 : dtsR1 | 塩基配列 |
| 配列番号 6 : dtsR1 | アミノ酸配列 |
| 配列番号 7 : dtsR2 | 塩基配列 |
| 配列番号 8 : dtsR2 | アミノ酸配列 |
| 配列番号 9 : pfk | 塩基配列 |
| 配列番号10 : pfk | アミノ酸配列 |
| 配列番号11 : scrB(AJ12340株) | 塩基配列 |
| 配列番号12 : scrB(AJ12340株) | アミノ酸配列 |
| 配列番号13 : scrB(AJ12309株) | 塩基配列 |
| 配列番号14 : scrB(AJ12309株) | アミノ酸配列 |
| 配列番号15 : scrB(AJ12310株) | 塩基配列 |
| 配列番号16 : gluABCD | 塩基配列 |
| 配列番号17 : gluABCD | アミノ酸配列 |
| 配列番号18 : gluABCD | アミノ酸配列 |
| 配列番号19 : gluABCD | アミノ酸配列 |
| 配列番号20 : gluABCD | アミノ酸配列 |
| 配列番号21 : pdhA | 塩基配列 |

| | | |
|----------|----------------|--------|
| 配列番号22 : | pdhA | アミノ酸配列 |
| 配列番号23 : | pc | 塩基配列 |
| 配列番号24 : | pc | アミノ酸配列 |
| 配列番号25 : | ppc | 塩基配列 |
| 配列番号26 : | ppc | アミノ酸配列 |
| 配列番号27 : | acn | 塩基配列 |
| 配列番号28 : | acn | アミノ酸配列 |
| 配列番号29 : | icd | 塩基配列 |
| 配列番号30 : | icd | アミノ酸配列 |
| 配列番号31 : | lpd | 塩基配列 |
| 配列番号32 : | lpd | アミノ酸配列 |
| 配列番号33 : | odhA | 塩基配列 |
| 配列番号34 : | odhA | アミノ酸配列 |
| 配列番号79 : | gdh(AJ12310株) | 塩基配列 |
| 配列番号80 : | gdh(AJ12310株) | アミノ酸配列 |
| 配列番号81 : | gdh(2256株) | 塩基配列 |
| 配列番号82 : | gdh(2256株) | アミノ酸配列 |
| 配列番号89 : | gltA(AJ12310株) | 塩基配列 |
| 配列番号90 : | gltA(AJ12310株) | アミノ酸配列 |
| 配列番号91 : | gltA(2256株) | 塩基配列 |
| 配列番号92 : | gltA(2256株) | アミノ酸配列 |
| 配列番号93 : | scrB(AJ12309株) | 塩基配列 |
| 配列番号94 : | scrB(AJ12309株) | アミノ酸配列 |

産業上の利用可能性

本発明により、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスのアミノ酸生合成系酵素をコードする遺伝子、又はアミノ酸の細胞内への取り込みに関与するタンパク質をコードする遺伝子が提供される。

本発明の遺伝子は、前記酵素又はタンパク質の製造、又はアミノ酸生産菌の育種に利用することができる。

請求の範囲

1. 配列番号2に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、50℃、5分の熱処理後に30%以上の残存活性を有するイソシトレートリアーゼ活性を有するタンパク質。

2. 配列番号4に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するアシルCoAカルボキシラーゼ活性に關与するタンパク質。

3. 配列番号6に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するDtsR活性を有するタンパク質。

4. 配列番号8に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するDtsR活性を有するタンパク質。

5. 配列番号10に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、60℃で30℃における活性と同等又はそれ以上のホスホフルクトキナーゼ活性を有するタンパク質。

6. 配列番号94に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスにシュークロース資化能を付与する活性を有するタンパク質。

7. 配列番号17～20に記載のアミノ酸配列のいずれかを有するタンパク

質、又は、前記アミノ酸配列のいずれかにおいて、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するグルタミン酸の取り込みに関与する機能を有するタンパク質。

8. 配列番号22に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するビルビン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

9. 配列番号24に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するビルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質。

10. 配列番号26に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、45℃、5分の熱処理後に50%以上の残存活性を有するホスホエノールビルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質。

11. 配列番号28に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、50℃、3分の熱処理後に30%以上の残存活性を有するアコニターゼ活性を有するタンパク質。

12. 配列番号30に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、45℃、10分の熱処理後に50%以上の残存活性を有するイソクエン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

13. 配列番号32に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又

は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するジヒドロリボアミドデヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

14. 配列番号34に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、50℃、10分の熱処理後に30%以上の残存活性を有する2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

15. 配列表の配列番号80に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、42℃で37℃における活性と同等又はそれ以上のグルタミン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

16. 配列表の配列番号90に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、37℃で23℃における活性と同等又はそれ以上のクエン酸シンターゼ活性を有するタンパク質。

17. 配列番号2に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、イソシトレートリアーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

18. 下記(a1)又は(b1)に示すDNAである請求項17記載のDNA。

(a1) 配列表の配列番号1に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b1) 配列表の配列番号1に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、イソシトレートリアーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

19. 配列番号4に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は

逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、アシルC o - Aカルボキシラーゼ活性に関与するタンパク質をコードするDNA。

20. 下記(a2)又は(b2)に示すDNAである請求項19記載のDNA。

(a2) 配列表の配列番号3に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b2) 配列表の配列番号3に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、アシルC o - Aカルボキシラーゼ活性に関与するタンパク質をコードするDNA。

21. 配列番号6に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、D t s R活性を有するタンパク質をコードするDNA。

22. 下記(a3)又は(b3)に示すDNAである請求項21記載のDNA。

(a3) 配列表の配列番号5に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b3) 配列表の配列番号5に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、D t s R活性を有するタンパク質をコードするDNA。

23. 配列番号8に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、D t s R活性を有するタンパク質をコードするDNA。

24. 下記(a4)又は(b4)に示すDNAである請求項23記載のDNA。

(a4) 配列表の配列番号7に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b4) 配列表の配列番号7に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、D t s R活

性を有するタンパク質をコードするDNA。

25. 配列番号10に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ホスホフルクトキナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

26. 下記(a5)又は(b5)に示すDNAである請求項25記載のDNA。

(a5) 配列表の配列番号9に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b5) 配列表の配列番号9に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ホスホフルクトキナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

27. 配列番号93に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、インペルターゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

28. 下記(a6)又は(b6)に示すDNAである請求項27記載のDNA。

(a6) 配列表の配列番号93に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b6) 配列表の配列番号93に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、インペルターゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

29. 配列番号17～20に記載のアミノ酸配列のいずれかを有するタンパク質、又は、前記アミノ酸配列のいずれかにおいて、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、グルタミン酸の取り込みに関与する機能を有するタンパク質、をコードするDNA。

30. 下記(a7)又は(b7)に示すDNAである請求項29記載のDNA

A。

(a 7) 配列表の配列番号 1 6 に記載の塩基配列からなる塩基配列を含む DNA。

(b 7) 配列表の配列番号 1 6 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、グルタミン酸の取り込みに関与する機能を有するタンパク質をコードする DNA。

3 1. 配列番号 2 2 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ビルビン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

3 2. 下記 (a 8) 又は (b 8) に示す DNA である請求項 3 1 記載の DNA。

(a 8) 配列表の配列番号 2 1 に記載の塩基配列からなる塩基配列を含む DNA。

(b 8) 配列表の配列番号 2 1 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ビルビン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

3 3. 配列番号 2 4 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ビルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

3 4. 下記 (a 9) 又は (b 9) に示す DNA である請求項 3 3 記載の DNA。

(a 9) 配列表の配列番号 2 3 に記載の塩基配列からなる塩基配列を含む DNA。

(b 9) 配列表の配列番号 2 3 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ビルビン

酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

35. 配列番号26に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ホスホエノールビルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

36. 下記(a10)又は(b10)に示すDNAである請求項35記載のDNA。

(a10) 配列表の配列番号25に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b10) 配列表の配列番号25に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ホスホエノールビルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

37. 配列番号28に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、アコニターゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

38. 下記(a11)又は(b11)に示すDNAである請求項37記載のDNA。

(a11) 配列表の配列番号27に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b11) 配列表の配列番号27に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、アコニターゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

39. 配列番号30に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ活性

を有するタンパク質をコードするDNA。

40. 下記(a12)又は(b12)に示すDNAである請求項39記載のDNA。

(a12) 配列表の配列番号27に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b12) 配列表の配列番号27に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

41. 配列番号32に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ジヒドロリボアミドデヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

42. 下記(a13)又は(b13)に示すDNAである請求項41記載のDNA。

(a13) 配列表の配列番号31に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b13) 配列表の配列番号31に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ジヒドロリボアミドデヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

43. 配列番号34に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、2-オキシグルタル酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

44. 下記(a14)又は(b14)に示すDNAである請求項43記載のDNA。

(a14) 配列表の配列番号33に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b 1 4) 配列表の配列番号 3 3 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

4 5. 配列表の配列番号 8 0 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、4 2℃で 3 7℃における活性と同等又はそれ以上のグルタミン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

4 6. 下記 (a 1 5) 又は (b 1 5) に示す DNA である請求項 4 5 記載の DNA。

(a 1 5) 配列表の配列番号 7 9 に記載の塩基配列からなる塩基配列を含む DNA。

(b 1 5) 配列表の配列番号 7 9 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、4 2℃で 3 7℃における活性と同等又はそれ以上のグルタミン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

4 7. 配列表の配列番号 9 0 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、3 7℃で 2 3℃における活性と同等又はそれ以上のクエン酸シンターゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

4 8. 下記 (a 1 6) 又は (b 1 6) に示す DNA である請求項 4 7 記載の DNA。

(a 1 6) 配列表の配列番号 8 9 に記載の塩基配列からなる塩基配列を含む DNA。

(b 1 6) 配列表の配列番号 8 9 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、3 7℃

で 23℃における活性と同等又はそれ以上のクエン酸シンターゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

49. L-アミノ酸生産能を有し、かつ、請求項17～48のいずれか一項に記載のDNAが導入された微生物を培地に培養し、L-アミノ酸を培地に生成蓄積させ、該培地よりL-アミノ酸を採取することを特徴とするL-アミノ酸の製造法。

1 / 15

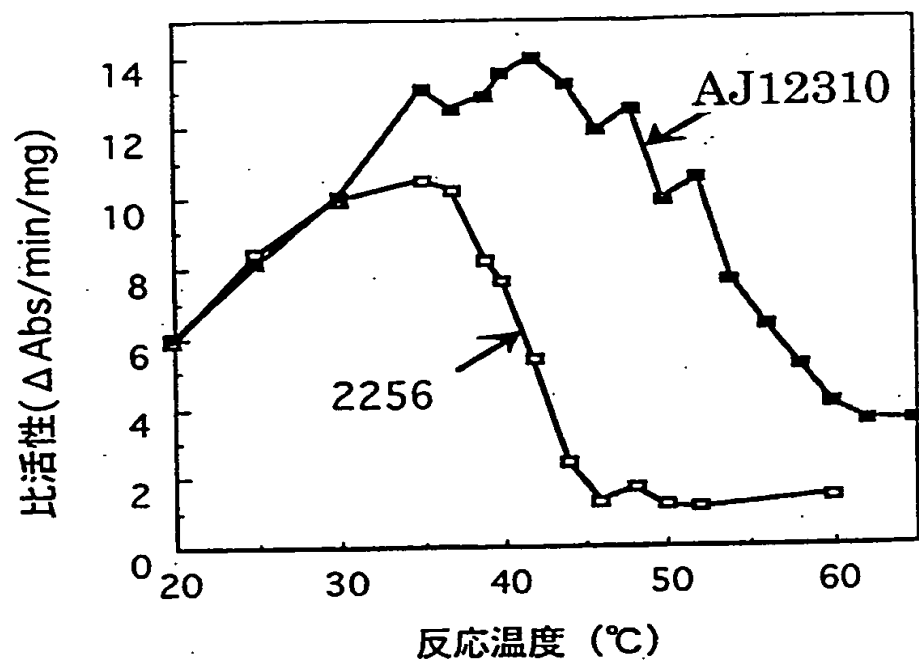


Fig. 1

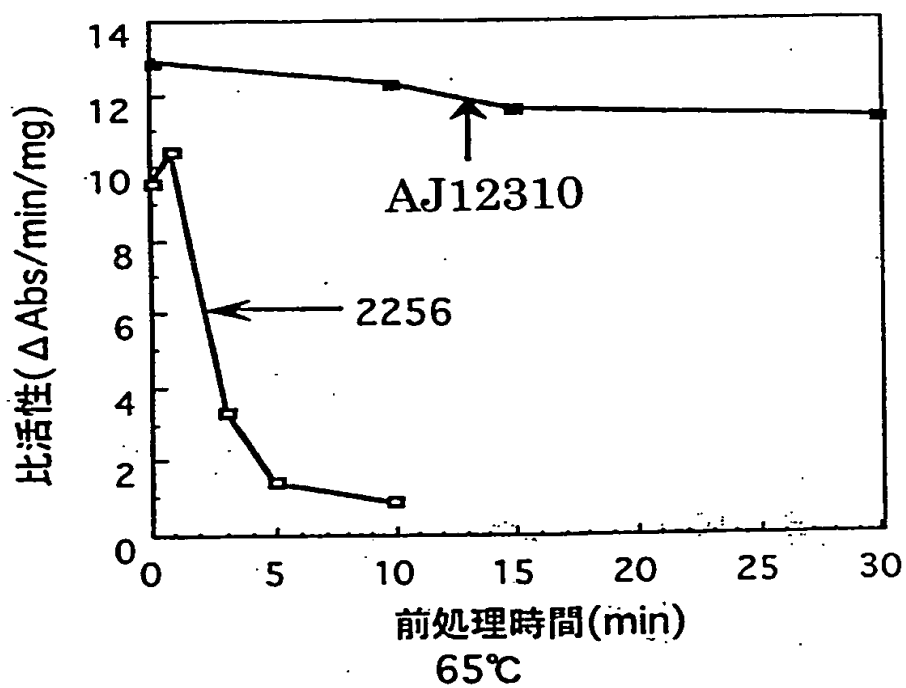


Fig. 2

THIS PAGE BLANK (USPTO)

2 / 15

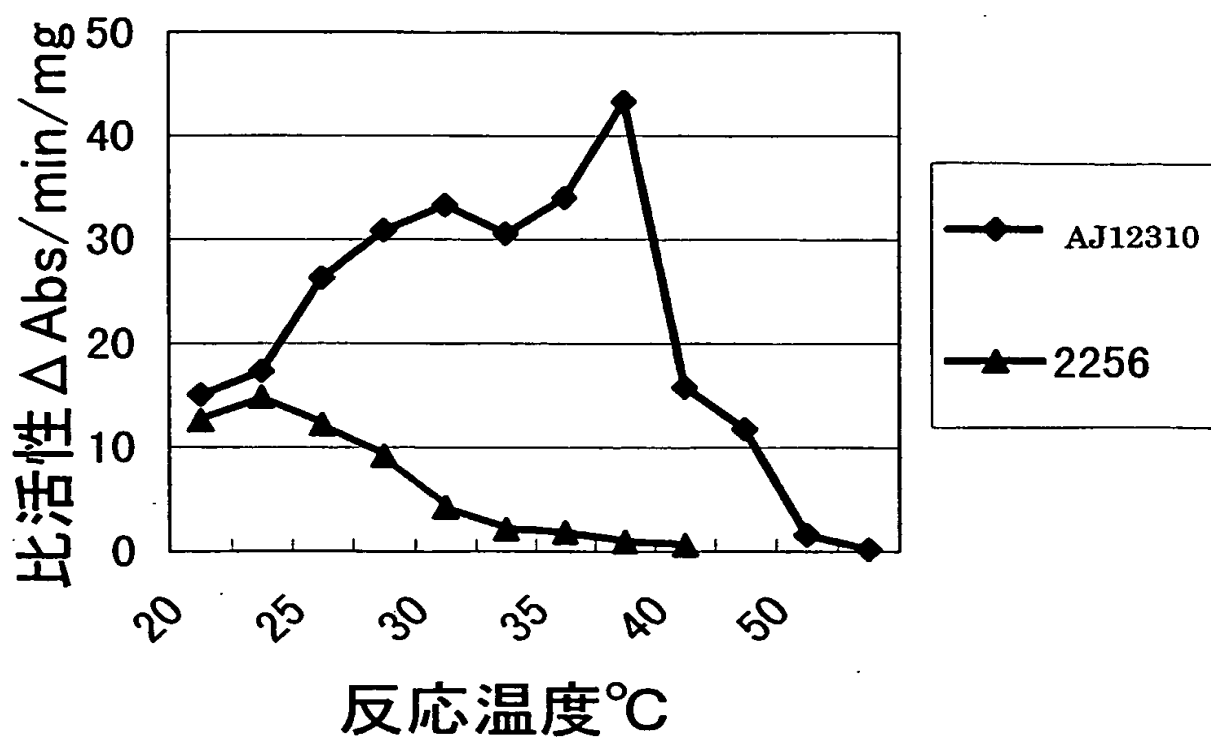


Fig. 3

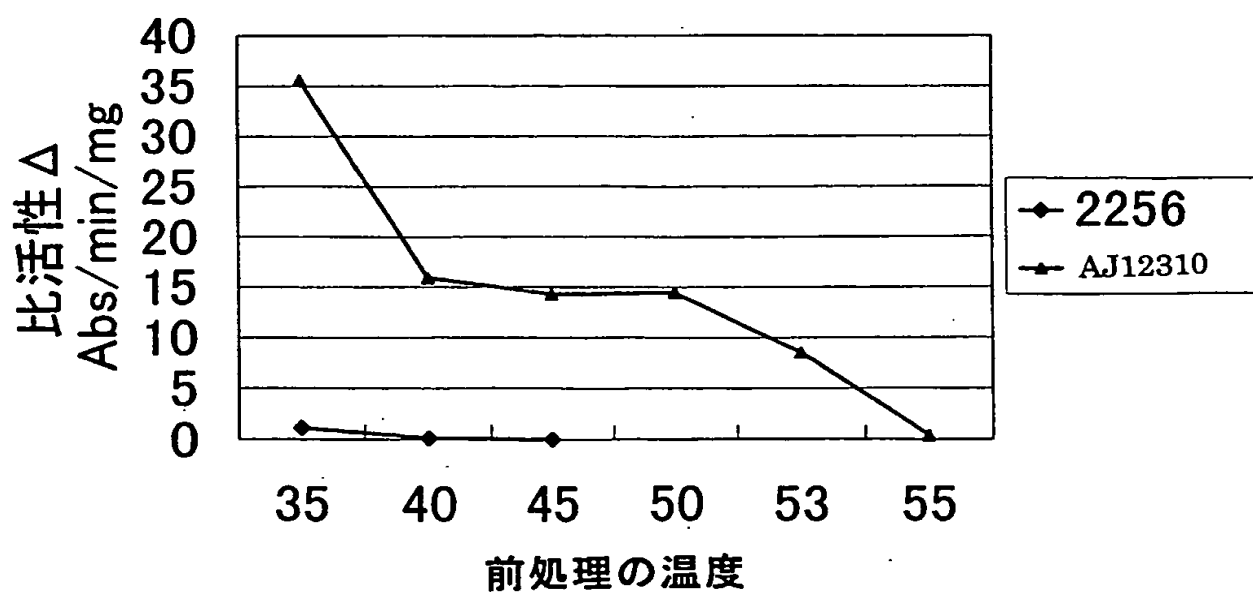


Fig. 4

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 5

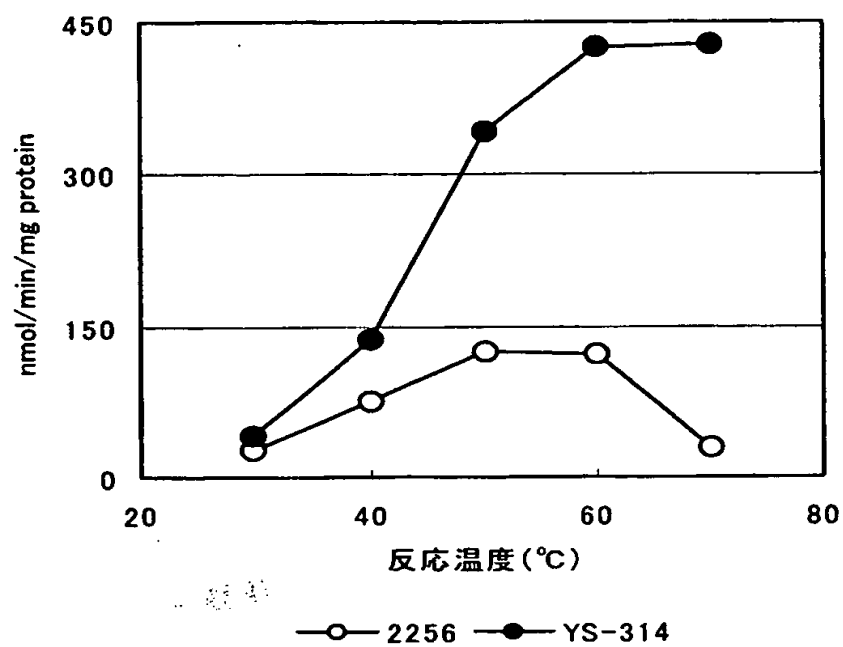
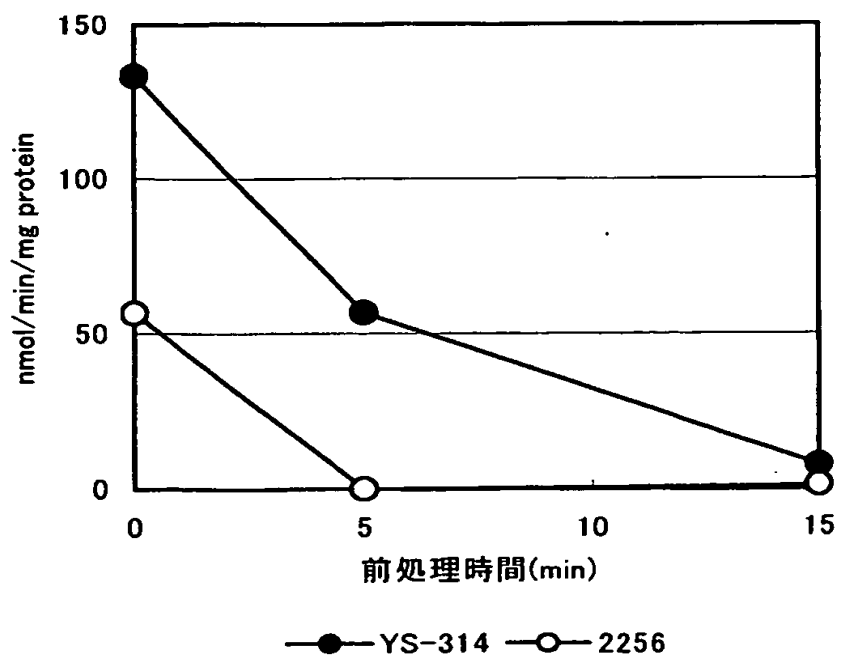


Fig. 6



"S PAGE BLANK (USPTO)

4 / 15

Fig. 7

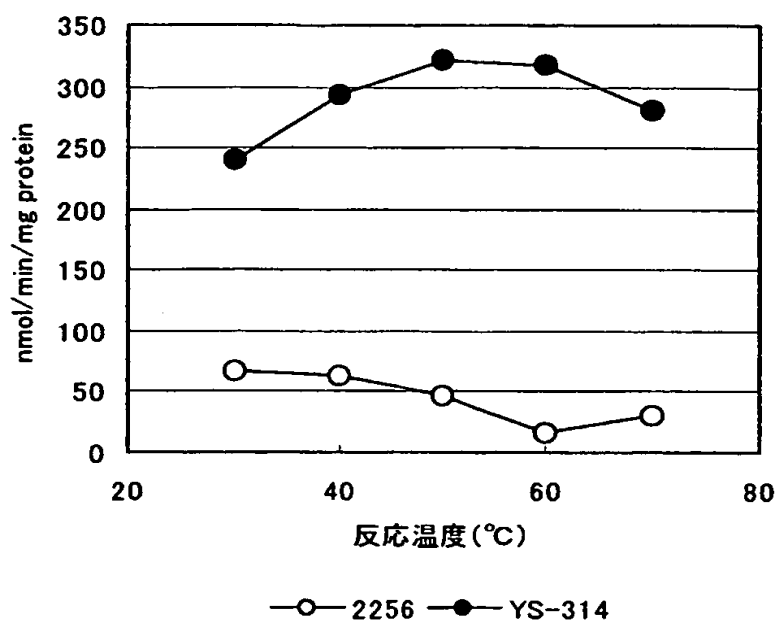
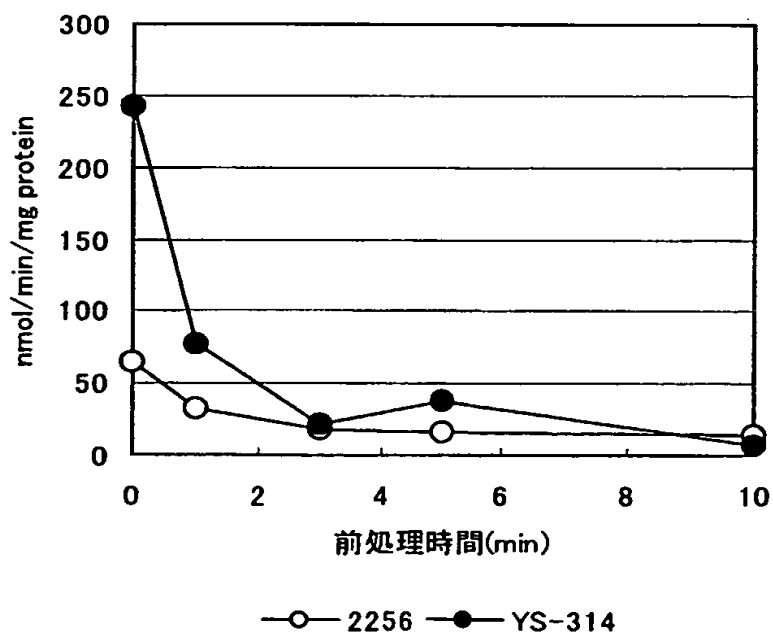


Fig. 8



THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 9

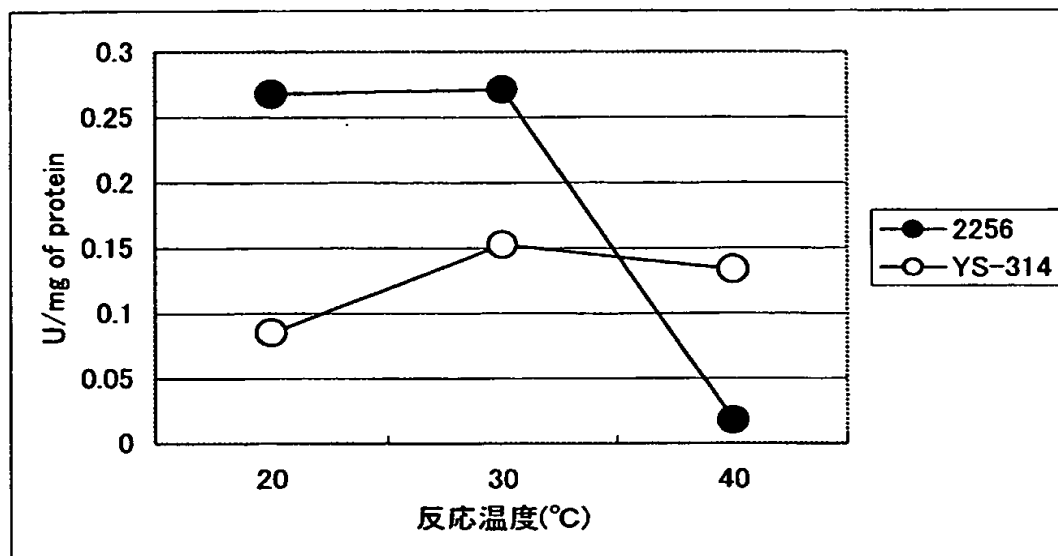
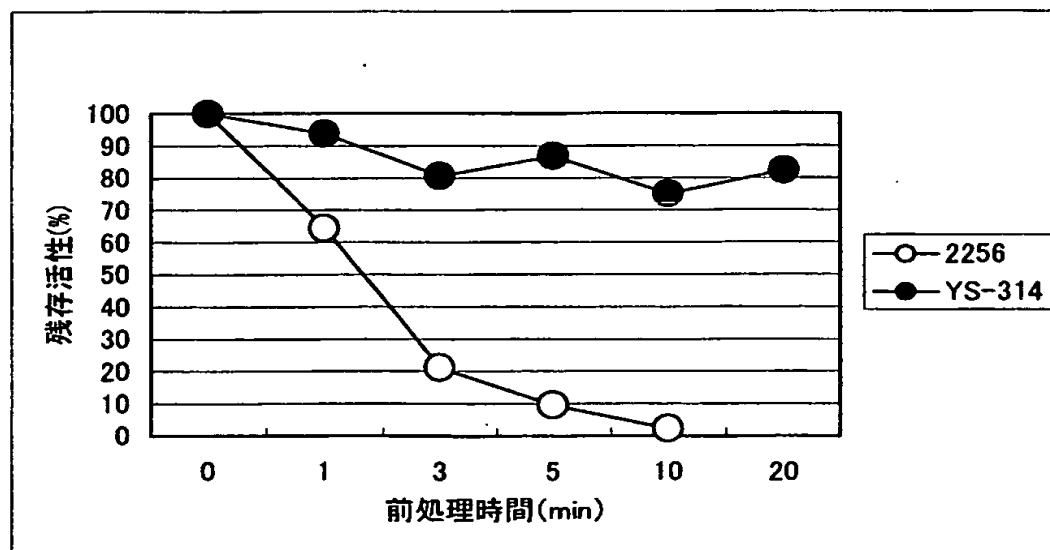


Fig. 10



THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 11

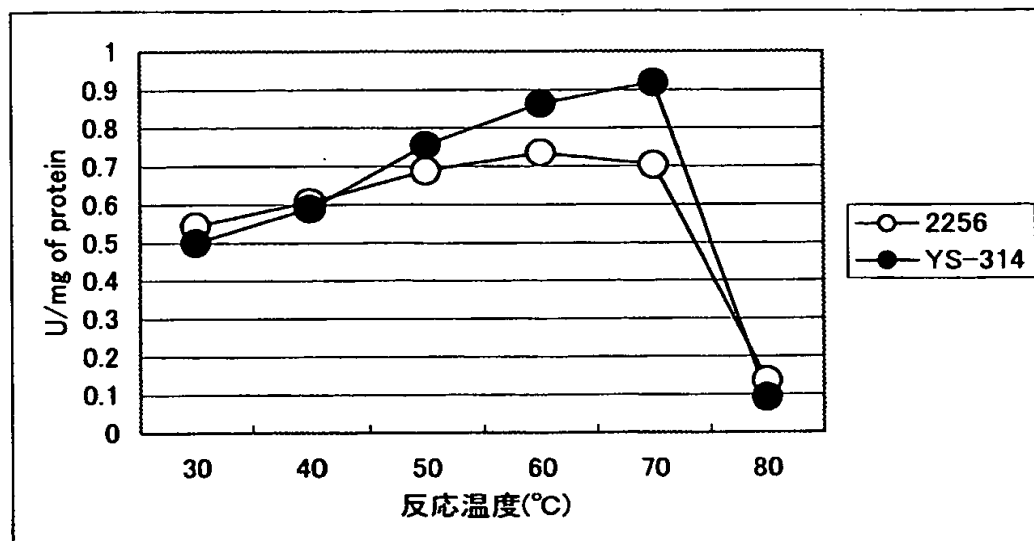
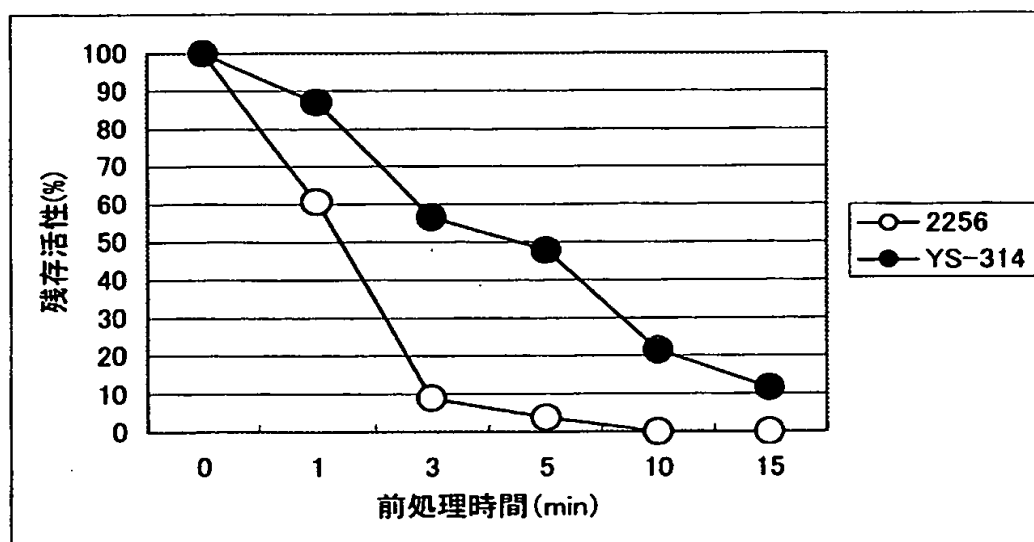


Fig. 12



THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 13

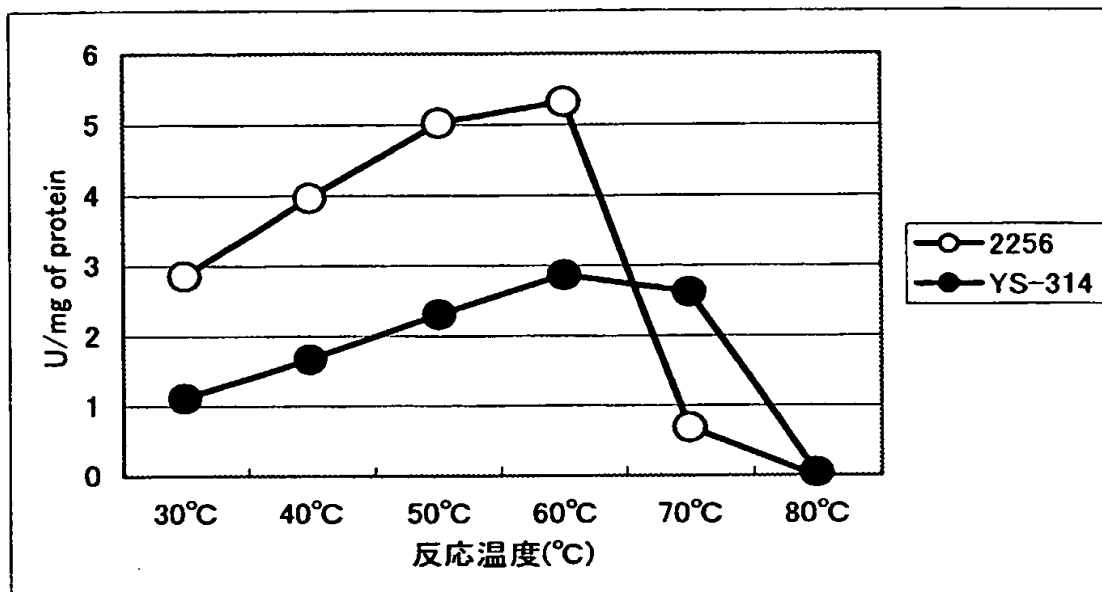
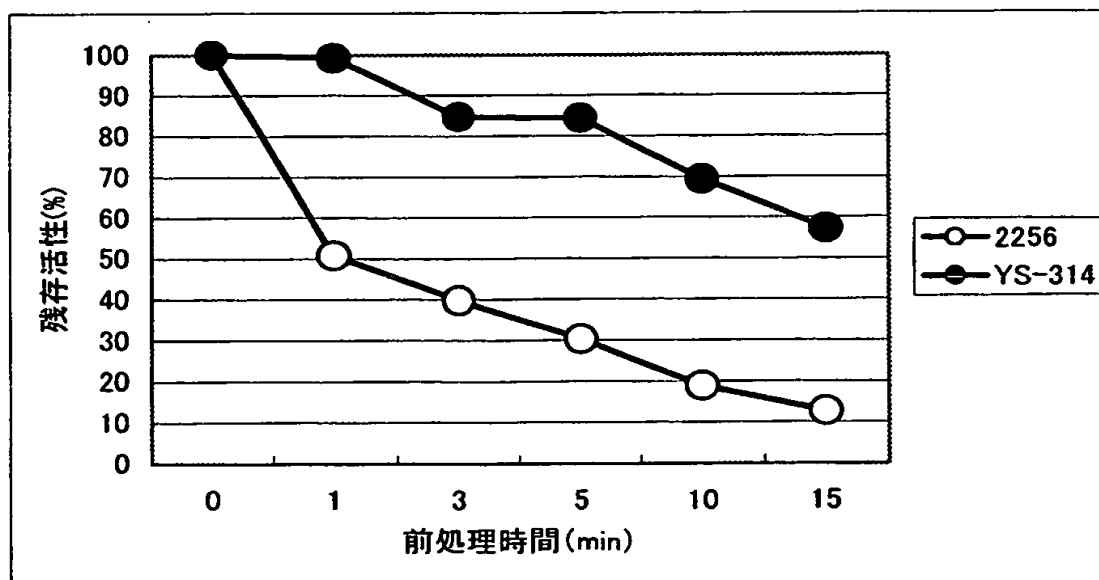
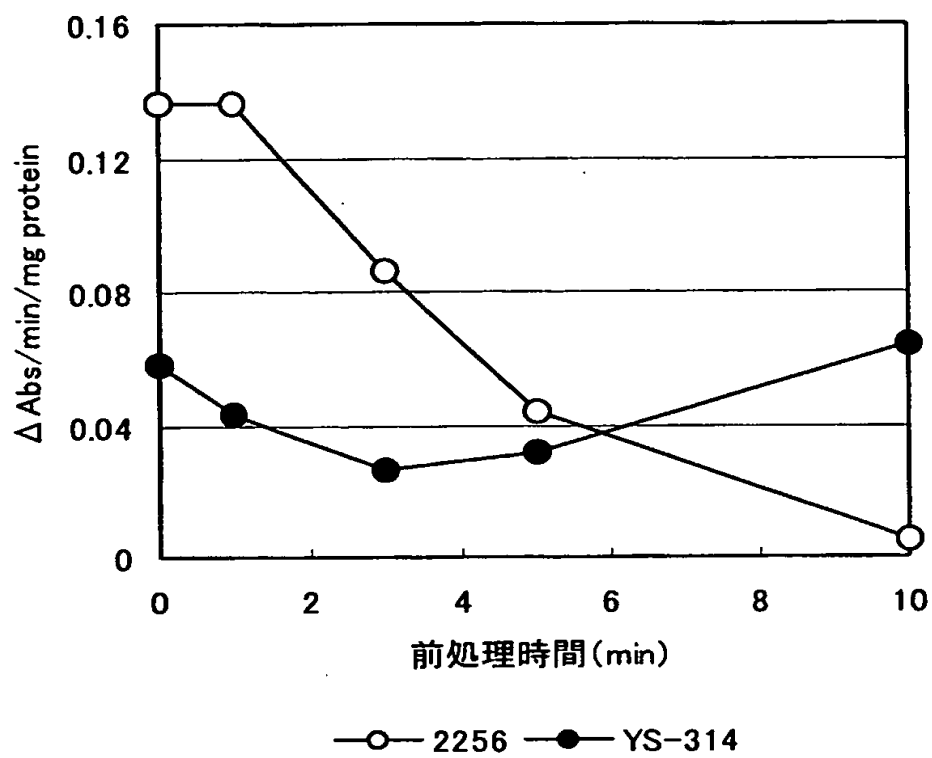


Fig. 14



THIS PAGE BLANK (USPTO)

8 / 15

*Fig. 15*

THIS PAGE BLANK (USPTO)

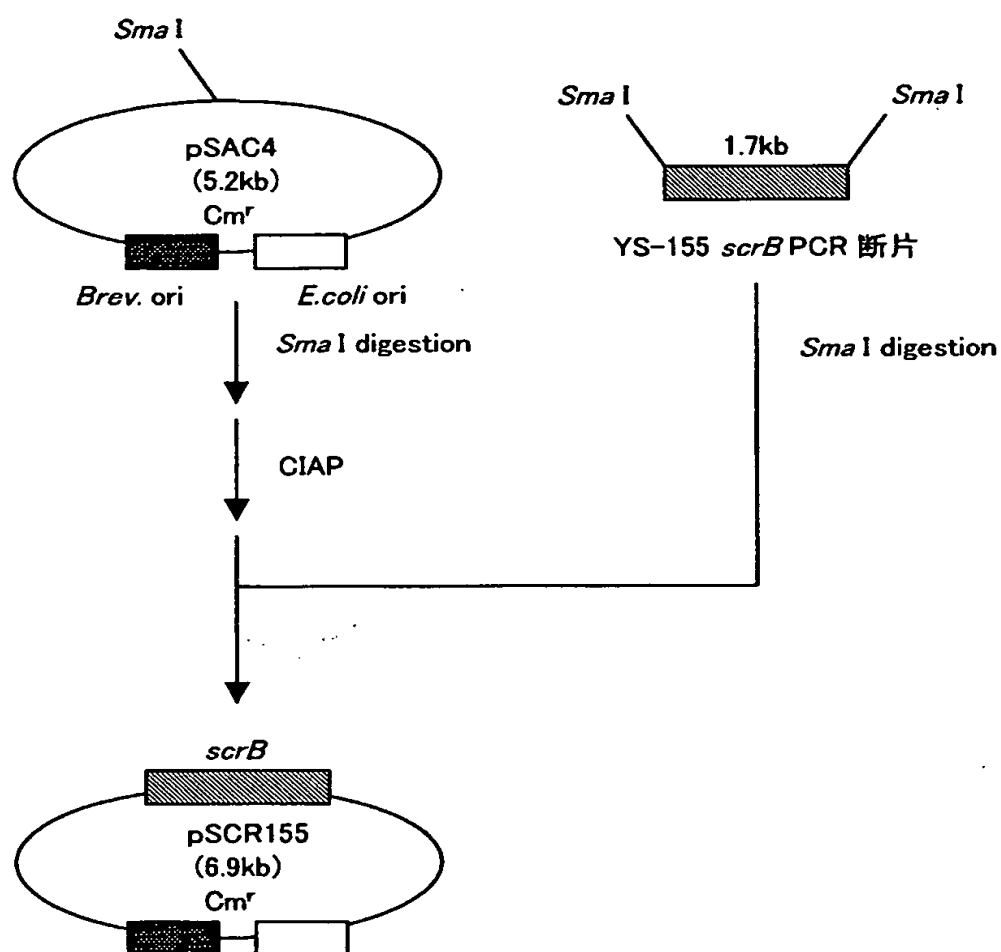


Fig. 16

THIS PAGE BLANK (USPTO)

10 / 15

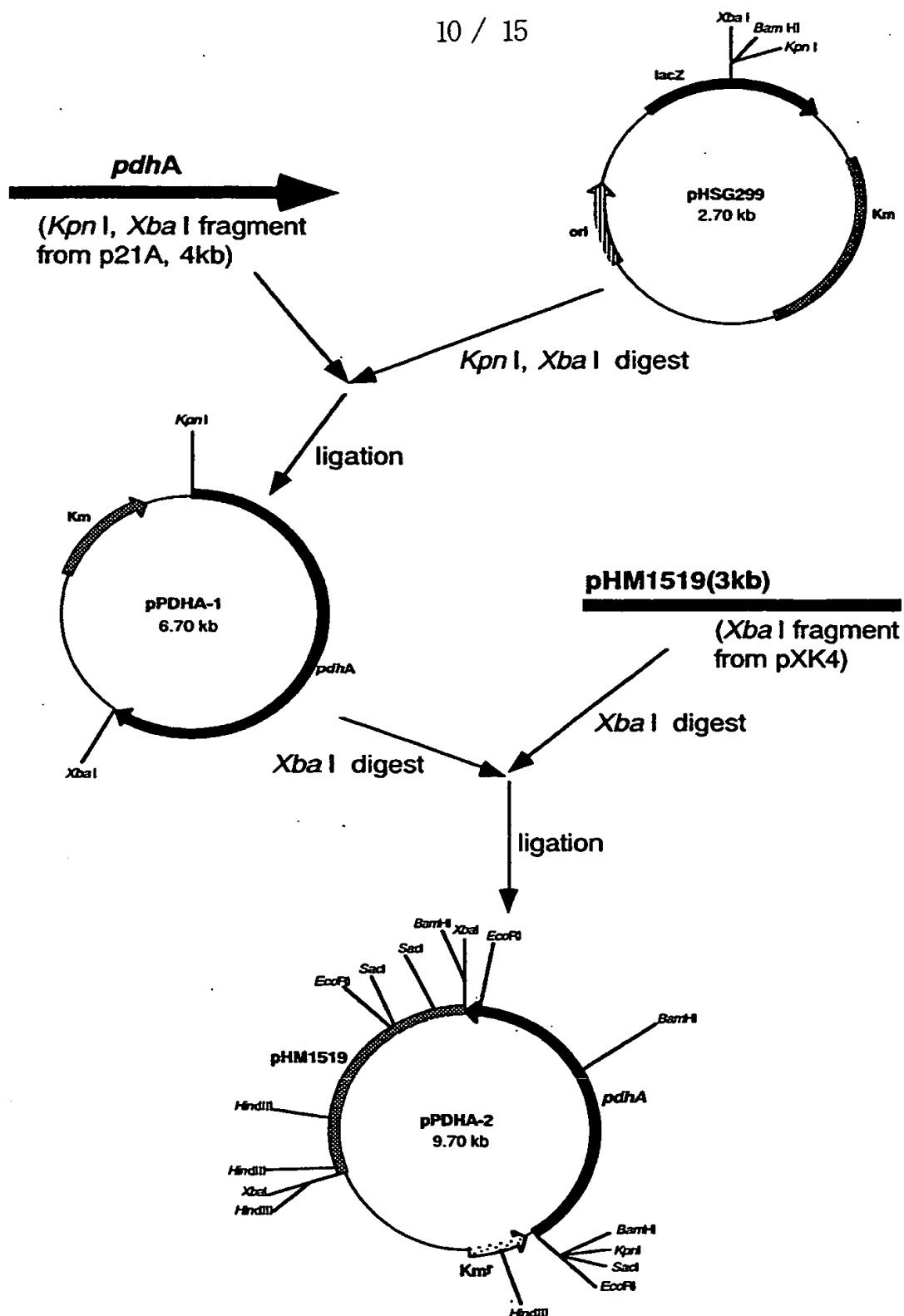


Fig. 17

THIS PAGE BLANK (USPTO)

11 / 15

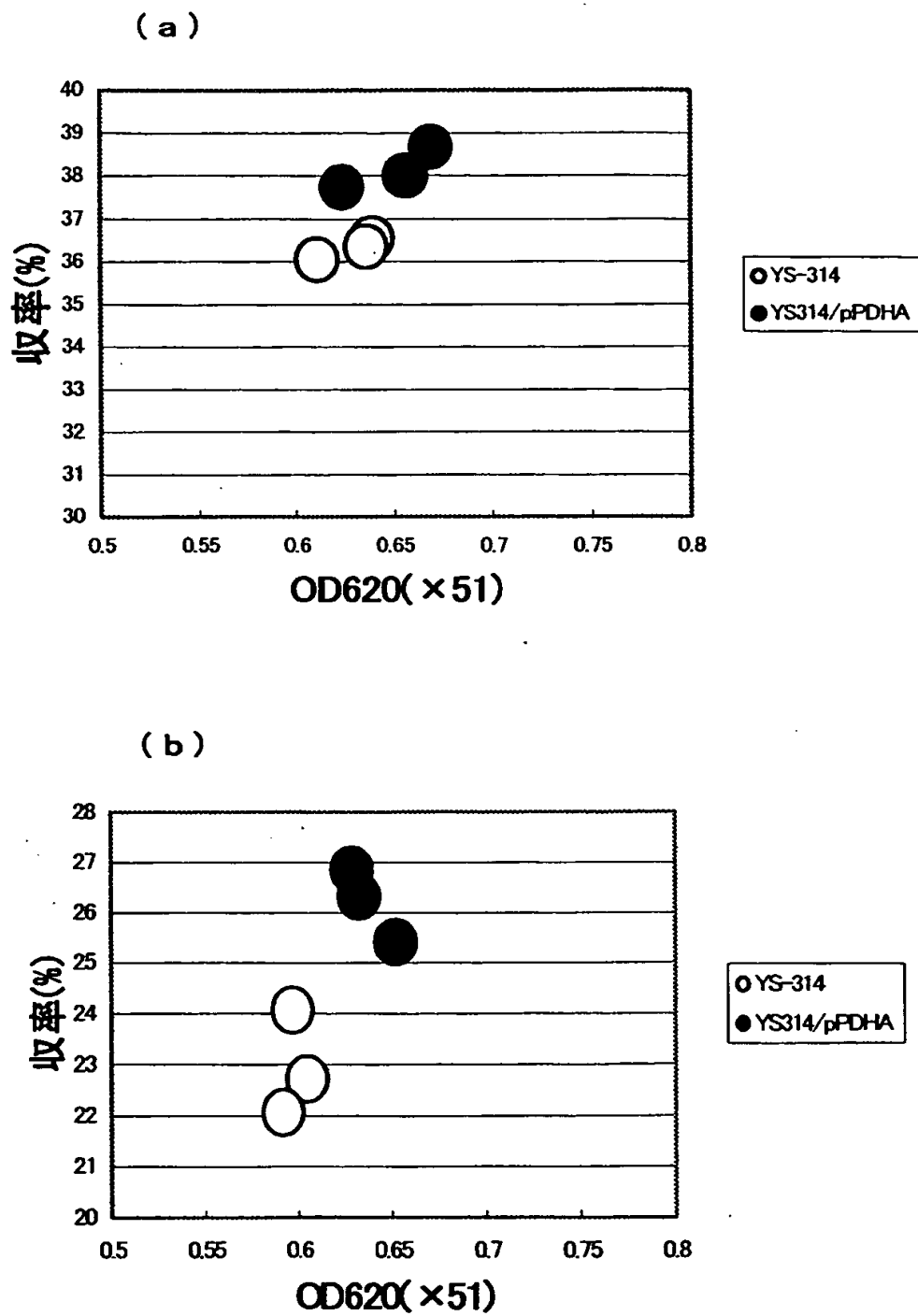


Fig. 18

THIS PAGE BLANK (USPTO)

12 / 15

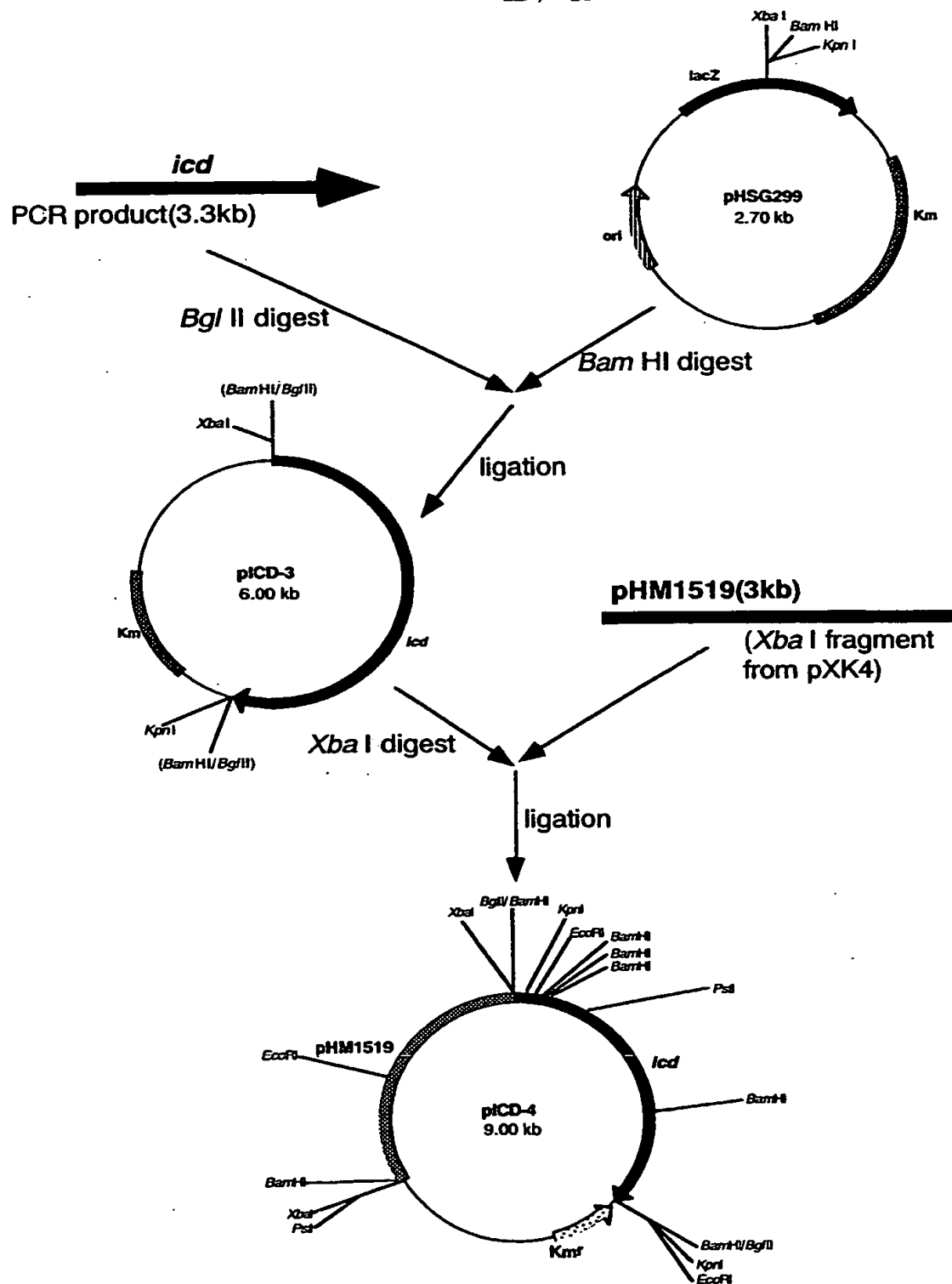


Fig. 19

THIS PAGE BLANK (USPTO)

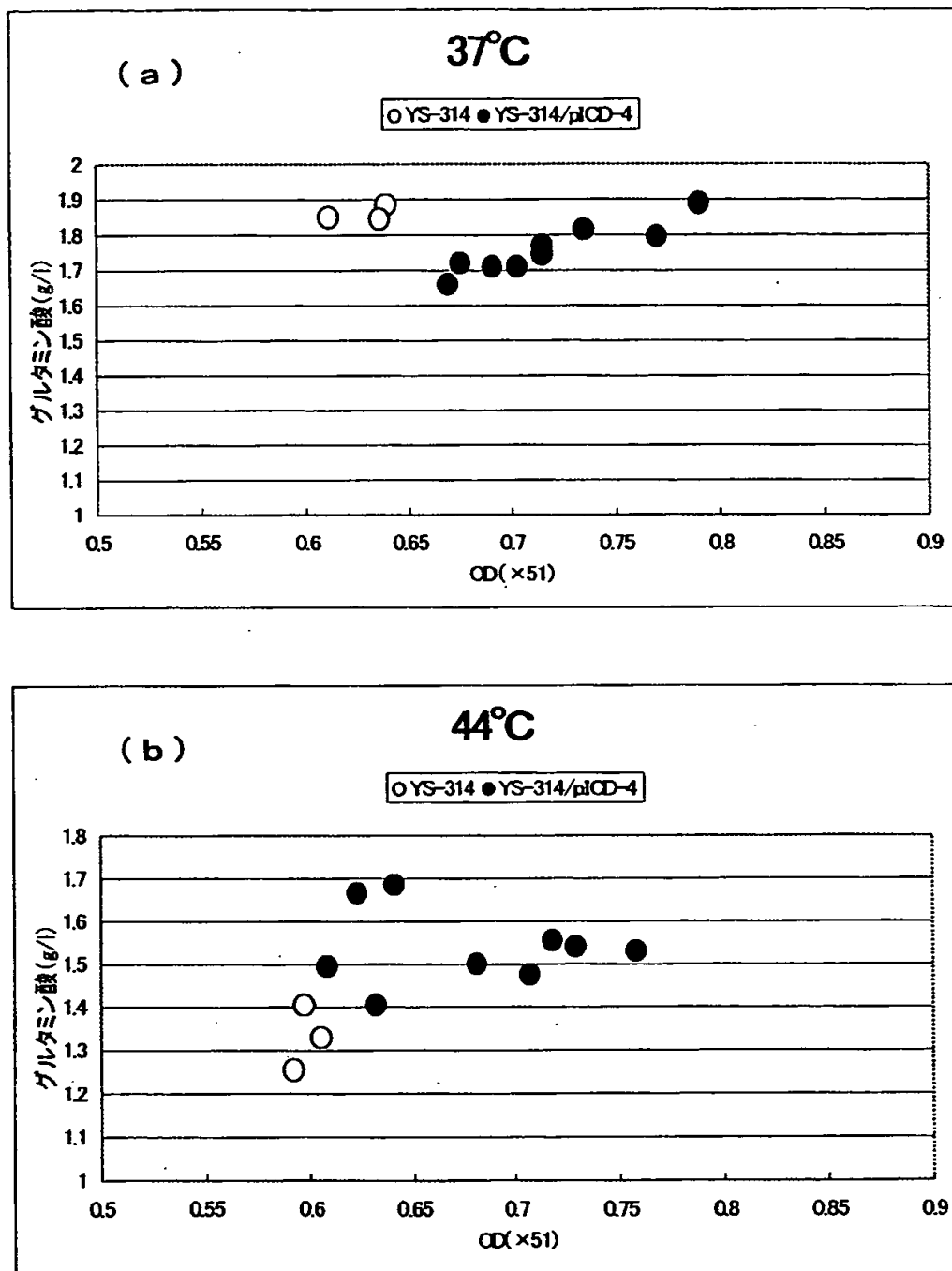


Fig. 20

THIS PAGE BLANK (USPTO)

14 / 15

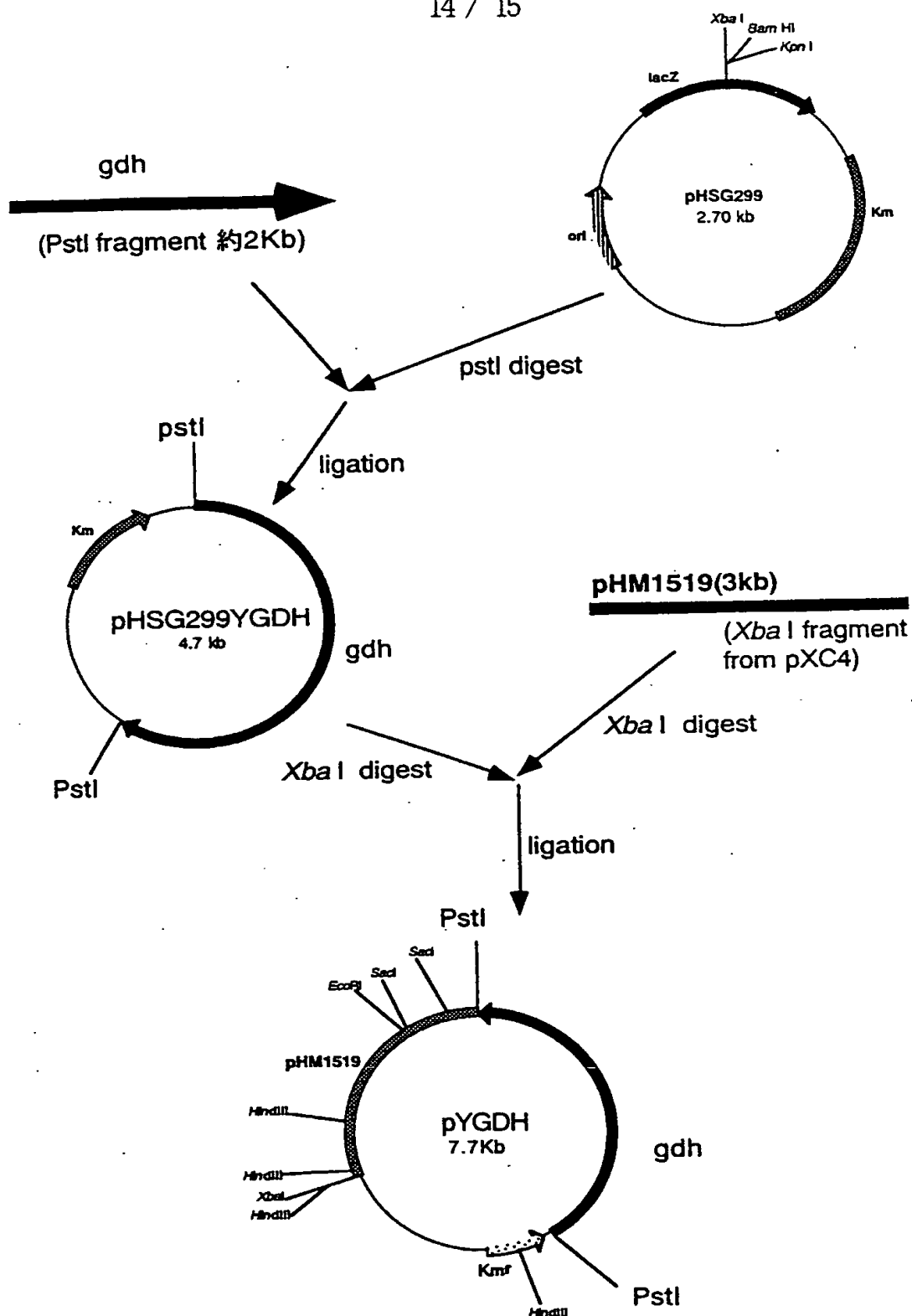


Fig. 21

THIS PAGE BLANK (USPTO)

15 / 15

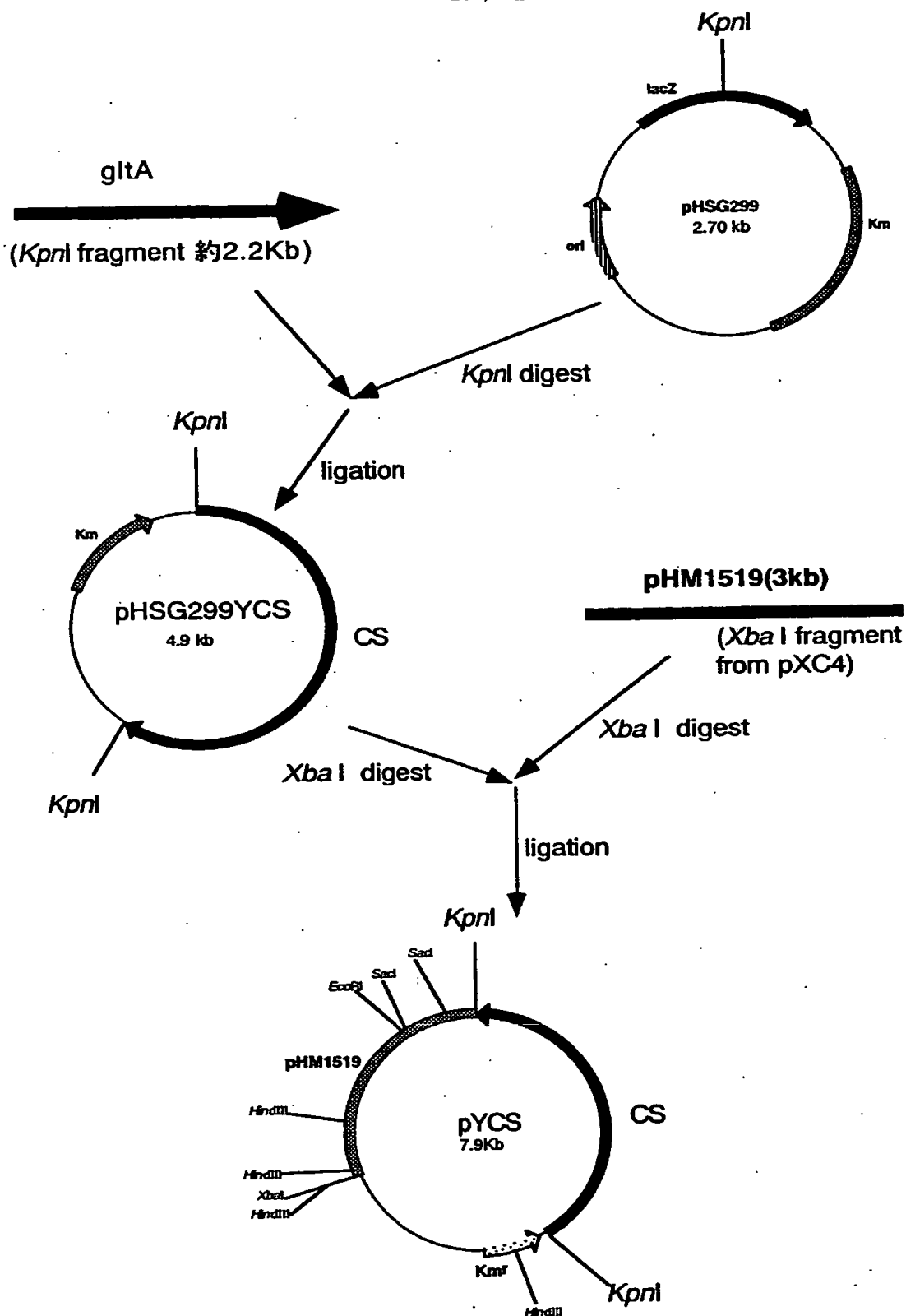


Fig. 22

THIS PAGE BLANK (USPTO)

配列表
SEQUENCE LISTING

<110> Ajinomoto Co., Inc.

<120> Genes for Heat resistant Enzymes of Amino Acid
Biosynthetic Pathway Derived from Thermophilic
Coryneform Bacteria

<130> B691SMOP1072

<140>

<141> 2000-10-04

<150> JP 11-282716

<151> 1999-10-04

<150> JP 11-311147

<151> 1999-11-01

<150> JP 2000-120687

<151> 2000-04-21

<160> 108

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 1980

<212> DNA

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<220>

<221> CDS

<222> (577)..(1869)

<400> 1

```
tgcattccac cgacgggtcac gcgttcgggtc ttgtcagcgg cgtcaatctg ctgatgggtc 60
atgcaaagct ctttcgaage aagagatcgg gtgtgtgcgg gcacctatcg ggggaagccc 120
tcgctgcgcc ccaggggggag ctggcgatgt gaccagggtta agtgataacc atcaccttgc 180
caatggggttt gcgaacttta ccgtgacgct acccccgctt ttgtttgate acaccagctc 240
gaaggctgtc gcttttccga agatgcacgt gaagtggcaa atccttgcca cccgagggtt 300
tcccagtaca aacgtactag tgatgaggat cacggggaac attgtggaga ttgcactttg 360
```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

2/123

```

caatatttgc aaaaggggtg actacccccg cgcaaaactt aaaaacccaa atccgttgac 420
ggacccatgc ccgatgaagc aatgtgtgaa gcacgccacc ggaacacagg ttgtggatca 480
ctcaccatga tgtgggggat tcgcatcaca cagtgtgcag ggccggcacct ctaccgaatg 540
cgccttacag cagcaccaag aagaagtgac tcttag atg tca aac gtt gga acg 594
                               Met Ser Asn Val Gly Thr
                               1                               5
cca cgt acc gca cag gaa atc cag cag gat tgg gac acc aac cca cgc 642
Pro Arg Thr Ala Gln Glu Ile Gln Gln Asp Trp Asp Thr Asn Pro Arg
                               10                               15                               20
tgg aac gga atc acc cgc gac tac acc gct gag cag gta gct gag ctc 690
Trp Asn Gly Ile Thr Arg Asp Tyr Thr Ala Glu Gln Val Ala Glu Leu
                               25                               30                               35
cag ggc agc gtc gtc gag gag cac acc ctc gca aag cgc ggc gcc gag 738
Gln Gly Ser Val Val Glu Glu His Thr Leu Ala Lys Arg Gly Ala Glu
                               40                               45                               50
atc ctg tgg gat gca gtt tcc gca gag ggc gac gac tac atc aac gca 786
Ile Leu Trp Asp Ala Val Ser Ala Glu Gly Asp Asp Tyr Ile Asn Ala
                               55                               60                               65                               70
ctg ggc gcc ctt acc ggt aac cag gct gtc cag cag gtc cgt gcc ggc 834
Leu Gly Ala Leu Thr Gly Asn Gln Ala Val Gln Gln Val Arg Ala Gly
                               75                               80                               85
ctg aag gct gtc tac ctc tcc ggc tgg cag gtc gca ggt gac gcc aac 882
Leu Lys Ala Val Tyr Leu Ser Gly Trp Gln Val Ala Gly Asp Ala Asn
                               90                               95                               100
ctc gcc ggt cac acc tac ccc gac cag tcc ctg tac ccg gcg aac tcc 930
Leu Ala Gly His Thr Tyr Pro Asp Gln Ser Leu Tyr Pro Ala Asn Ser
                               105                               110                               115
gtc ccg aac gtt gtc cgt cgc atc aac aac gca ctg ctg cgc gcc gat 978
Val Pro Asn Val Val Arg Arg Ile Asn Asn Ala Leu Leu Arg Ala Asp
                               120                               125                               130
gag atc gca cgc gtc gag ggt gac acc tcc gtc gac aac tgg ctc gtc 1026
Glu Ile Ala Arg Val Glu Gly Asp Thr Ser Val Asp Asn Trp Leu Val
                               135                               140                               145                               150
ccg atc gtc gcc gac ggc gag gcc ggc ttc ggt ggc gcc ctc aac gtc 1074
Pro Ile Val Ala Asp Gly Glu Ala Gly Phe Gly Gly Ala Leu Asn Val
                               155                               160                               165
tac gag ctc cag aag ggc atg atc acc gct ggt gcc gca ggc acc cac 1122
Tyr Glu Leu Gln Lys Gly Met Ile Thr Ala Gly Ala Ala Gly Thr His
                               170                               175                               180
tgg gag gat cag ctc gct tcc gag aag aag tgt ggc cac ctc ggt ggc 1170
Trp Glu Asp Gln Leu Ala Ser Glu Lys Lys Cys Gly His Leu Gly Gly
                               185                               190                               195
aag gtc ctc atc ccg acc cag cag cac atc cgc acc ctg aac tcc gcc 1218

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

4/123

425

430

gccgtatggc ctgacggcac cgccccctccc ttgtcactcc agtactcctt tgtgcacatc 1949
 ggccatctcc acaccgcgcg ccccgccacc t 1980

<210> 2

<211> 431

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 2

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Ser | Asn | Val | Gly | Thr | Pro | Arg | Thr | Ala | Gln | Glu | Ile | Gln | Gln | Asp |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | |
| Trp | Asp | Thr | Asn | Pro | Arg | Trp | Asn | Gly | Ile | Thr | Arg | Asp | Tyr | Thr | Ala |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Glu | Gln | Val | Ala | Glu | Leu | Gln | Gly | Ser | Val | Val | Glu | Glu | His | Thr | Leu |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Ala | Lys | Arg | Gly | Ala | Glu | Ile | Leu | Trp | Asp | Ala | Val | Ser | Ala | Glu | Gly |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Asp | Asp | Tyr | Ile | Asn | Ala | Leu | Gly | Ala | Leu | Thr | Gly | Asn | Gln | Ala | Val |
| 65 | | | | | 70 | | | | 75 | | | | | 80 | |
| Gln | Gln | Val | Arg | Ala | Gly | Leu | Lys | Ala | Val | Tyr | Leu | Ser | Gly | Trp | Gln |
| | | | 85 | | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Val | Ala | Gly | Asp | Ala | Asn | Leu | Ala | Gly | His | Thr | Tyr | Pro | Asp | Gln | Ser |
| | | 100 | | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Leu | Tyr | Pro | Ala | Asn | Ser | Val | Pro | Asn | Val | Val | Arg | Arg | Ile | Asn | Asn |
| | | 115 | | | | | | 120 | | | | | 125 | | |
| Ala | Leu | Leu | Arg | Ala | Asp | Glu | Ile | Ala | Arg | Val | Glu | Gly | Asp | Thr | Ser |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Val | Asp | Asn | Trp | Leu | Val | Pro | Ile | Val | Ala | Asp | Gly | Glu | Ala | Gly | Phe |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |
| Gly | Gly | Ala | Leu | Asn | Val | Tyr | Glu | Leu | Gln | Lys | Gly | Met | Ile | Thr | Ala |
| | | | 165 | | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| Gly | Ala | Ala | Gly | Thr | His | Trp | Glu | Asp | Gln | Leu | Ala | Ser | Glu | Lys | Lys |
| | | 180 | | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Cys | Gly | His | Leu | Gly | Gly | Lys | Val | Leu | Ile | Pro | Thr | Gln | Gln | His | Ile |
| | 195 | | | | | 200 | | | | | | 205 | | | |
| Arg | Thr | Leu | Asn | Ser | Ala | Arg | Leu | Ala | Ala | Asp | Val | Ala | Asn | Thr | Pro |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Thr | Val | Val | Ile | Ala | Arg | Thr | Asp | Ala | Glu | Ala | Ala | Thr | Leu | Ile | Thr |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 |
| Ser | Asp | Val | Asp | Glu | Arg | Asp | Arg | Pro | Phe | Ile | Thr | Gly | Glu | Arg | Thr |
| | | | 245 | | | | | | 250 | | | | | 255 | |
| Ala | Glu | Gly | Tyr | Tyr | His | Val | Lys | Pro | Gly | Leu | Glu | Pro | Cys | Ile | Ala |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 260 | | 265 | | 270 | | | | | | | | | | |
| Arg | Ala | Lys | Ser | Tyr | Ala | Pro | Tyr | Ala | Asp | Met | Ile | Trp | Met | Glu | Thr |
| | 275 | | | | | | 280 | | | | | 285 | | | |
| Gly | Thr | Pro | Asp | Leu | Glu | Leu | Ala | Lys | Lys | Phe | Ala | Glu | Gly | Val | Arg |
| | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | |
| Ser | Glu | Phe | Pro | Asp | Gln | Leu | Leu | Ser | Tyr | Asn | Cys | Ser | Pro | Ser | Phe |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 |
| Asn | Trp | Ser | Ala | His | Leu | Glu | Ala | Asp | Glu | Ile | Ala | Lys | Phe | Gln | Lys |
| | | | 325 | | | | | 330 | | | | | | 335 | |
| Glu | Leu | Gly | Ala | Met | Gly | Phe | Lys | Phe | Gln | Phe | Ile | Thr | Leu | Ala | Gly |
| | 340 | | | | | | 345 | | | | | | 350 | | |
| Phe | His | Ser | Leu | Asn | Tyr | Gly | Met | Phe | Asp | Leu | Ala | Tyr | Gly | Tyr | Ala |
| | 355 | | | | | 360 | | | | | | 365 | | | |
| Arg | Glu | Gly | Met | Pro | Ala | Phe | Val | Asp | Leu | Gln | Asn | Arg | Glu | Phe | Lys |
| | 370 | | | | 375 | | | | | | 380 | | | | |
| Ala | Ala | Glu | Glu | Arg | Gly | Phe | Thr | Ala | Val | Lys | His | Gln | Arg | Glu | Val |
| 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 |
| Gly | Ala | Gly | Tyr | Phe | Asp | Thr | Ile | Ala | Thr | Thr | Val | Asp | Pro | Asn | Ser |
| | | | 405 | | | | | 410 | | | | | | 415 | |
| Ser | Thr | Thr | Ala | Leu | Lys | Gly | Ser | Thr | Glu | Glu | Cys | Gln | Phe | His | |
| | 420 | | | | | | 425 | | | | | | 430 | | |

<210> 3

<211> 2381

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (577)..(2349)

<400> 3

```

agcaggccgt gttgccgaac ggcaacttcc gcagccgcaa ggagatcgag gaggtgtact 60
cgcacctcaa ccctgccgag gacaccgtgg tgtactgccg cgtgggtgac cgcgcggccc 120
acacctggtt cgtgttgaag tacctgctgg ggtttgaaaa cgtccgcaac tatgacggtt 180
cctgggtccga gtggggcaac atgggtgcga tgcccatcgt ccagggtgat gagccgggct 240
cactetagtc accccggggt cacctccctg gtcacccccg taccctcccg ggtacacccc 300
ggggacgggg tgtgacctgg atctccctg catgtggaca ccgggaaact ttgcctggga 360
aatgaccatc cagtaccgta atgcgggtat gttaacgcgg tcacagggtg caccagaatc 420
cggatcgtct aaccccctta gcgggattcg ctaaaagatc accgagttag tgtgcaagaa 480
taatgctgat cgcaggggca ctgtcatacg ctgtcatgca gtcaatgaac agtgcggtgc 540
tctgtcgtga agaaaatcaa aaccaggagg gtttta gtg tca gtc gag acc agg 594
Val Ser Val Glu Thr Arg

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|--|--|--|--|---|--|
| | | | | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | 5 | |
| aag | atc | acc | aag | gta | ctt | gtc | gcc | aac | cgt | ggt | gaa | atc | gca | atc | cgt | 642 | | | | | | |
| Lys | Ile | Thr | Lys | Val | Leu | Val | Ala | Asn | Arg | Gly | Glu | Ile | Ala | Ile | Arg | | | | | | | |
| | | | 10 | | | | | | 15 | | | 20 | | | | | | | | | | |
| gtt | ttc | cgc | gca | gca | cgg | gat | gaa | ggc | atc | gcc | tct | gtc | gcc | gtc | tac | 690 | | | | | | |
| Val | Phe | Arg | Ala | Ala | Arg | Asp | Glu | Gly | Ile | Ala | Ser | Val | Ala | Val | Tyr | | | | | | | |
| | | | 25 | | | | | | 30 | | | 35 | | | | | | | | | | |
| gcg | gag | ccg | gac | gca | gat | gcc | cct | ttc | gtc | gag | tat | gcc | gat | gag | gcc | 738 | | | | | | |
| Ala | Glu | Pro | Asp | Ala | Asp | Ala | Pro | Phe | Val | Glu | Tyr | Ala | Asp | Glu | Ala | | | | | | | |
| | | | 40 | | | | | | 45 | | | 50 | | | | | | | | | | |
| ttc | gca | ctc | ggt | ggc | cag | act | tcc | gca | gag | tcc | tac | ctc | gtc | att | gac | 786 | | | | | | |
| Phe | Ala | Leu | Gly | Gly | Gln | Thr | Ser | Ala | Glu | Ser | Tyr | Leu | Val | Ile | Asp | | | | | | | |
| | | | 55 | | | | | | 60 | | | 65 | | | 70 | | | | | | | |
| aag | atc | att | gac | gca | gca | cgc | aag | tcc | ggt | gca | gac | gct | gtc | cac | ccc | 834 | | | | | | |
| Lys | Ile | Ile | Asp | Ala | Ala | Arg | Lys | Ser | Gly | Ala | Asp | Ala | Val | His | Pro | | | | | | | |
| | | | 75 | | | | | | 80 | | | 85 | | | | | | | | | | |
| ggc | tac | ggc | ttc | ctc | gcc | gag | aac | gcc | gat | ttc | gct | gaa | gct | gtc | atc | 882 | | | | | | |
| Gly | Tyr | Gly | Phe | Leu | Ala | Glu | Asn | Ala | Asp | Phe | Ala | Glu | Ala | Val | Ile | | | | | | | |
| | | | 90 | | | | | | 95 | | | 100 | | | | | | | | | | |
| aac | gag | ggc | ctg | atc | tgg | atc | gga | cca | tcc | cct | gag | tcc | atc | cgt | tcc | 930 | | | | | | |
| Asn | Glu | Gly | Leu | Ile | Trp | Ile | Gly | Pro | Ser | Pro | Glu | Ser | Ile | Arg | Ser | | | | | | | |
| | | | 105 | | | | | | 110 | | | 115 | | | | | | | | | | |
| ctc | ggt | gac | aag | gtc | acc | gca | cgc | cac | atc | gcc | aac | aac | gcc | aac | gca | 978 | | | | | | |
| Leu | Gly | Asp | Lys | Val | Thr | Ala | Arg | His | Ile | Ala | Asn | Asn | Ala | Asn | Ala | | | | | | | |
| | | | 120 | | | | | | 125 | | | 130 | | | | | | | | | | |
| ccg | atg | gca | ccg | ggc | acc | aag | gag | cct | gtc | aag | gac | gcc | gct | gag | gtt | 1026 | | | | | | |
| Pro | Met | Ala | Pro | Gly | Thr | Lys | Glu | Pro | Val | Lys | Asp | Ala | Ala | Glu | Val | | | | | | | |
| 135 | | | | | | 140 | | | | | | 145 | | | 150 | | | | | | | |
| gtc | gcc | ttc | gcc | gag | gag | ttc | ggt | ctc | ccc | atc | gcc | atc | aag | gct | gcc | 1074 | | | | | | |
| Val | Ala | Phe | Ala | Glu | Glu | Phe | Gly | Leu | Pro | Ile | Ala | Ile | Lys | Ala | Ala | | | | | | | |
| | | | 155 | | | | | | 160 | | | 165 | | | | | | | | | | |
| ttc | ggt | ggc | ggc | gga | cgt | ggc | atg | aag | gtc | gcc | tac | gag | atg | gac | gag | 1122 | | | | | | |
| Phe | Gly | Gly | Gly | Gly | Arg | Gly | Met | Lys | Val | Ala | Tyr | Glu | Met | Asp | Glu | | | | | | | |
| | | | 170 | | | | | | 175 | | | 180 | | | | | | | | | | |
| gtc | gcc | gac | ctc | ttc | gaa | tcc | gcc | acc | cgt | gag | gcc | acc | gcc | gcc | ttc | 1170 | | | | | | |
| Val | Ala | Asp | Leu | Phe | Glu | Ser | Ala | Thr | Arg | Glu | Ala | Thr | Ala | Ala | Phe | | | | | | | |
| | | | 185 | | | | | | 190 | | | 195 | | | | | | | | | | |
| ggt | cgt | ggt | gag | tgc | ttc | gtg | gag | cgc | tac | ctg | gac | aag | gcc | cgc | cac | 1218 | | | | | | |
| Gly | Arg | Gly | Glu | Cys | Phe | Val | Glu | Arg | Tyr | Leu | Asp | Lys | Ala | Arg | His | | | | | | | |
| 200 | | | | | | 205 | | | | | | 210 | | | | | | | | | | |
| gtc | gag | gca | cag | gtc | atc | gcc | gac | aag | cac | ggc | aac | gtt | gtg | gtc | gcc | 1266 | | | | | | |
| Val | Glu | Ala | Gln | Val | Ile | Ala | Asp | Lys | His | Gly | Asn | Val | Val | Val | Ala | | | | | | | |
| 215 | | | | | | 220 | | | | | | 225 | | | 230 | | | | | | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

7/123

| | |
|---|------|
| ggt acc cgt gac tgc tcc ctg cag cgt cgt ttc cag aag ctc gtc gag | 1314 |
| Gly Thr Arg Asp Cys Ser Leu Gln Arg Arg Phe Gln Lys Leu Val Glu | |
| 235 240 245 | |
| gag gca ccg gca ccg ttc ctc acc gat gag cag cgt gac cgc atc cac | 1362 |
| Glu Ala Pro Ala Pro Phe Leu Thr Asp Glu Gln Arg Asp Arg Ile His | |
| 250 255 260 | |
| tcc tcc gcc aag gct atc tgc cgc gag gcc ggt tac tac ggt gcc ggc | 1410 |
| Ser Ser Ala Lys Ala Ile Cys Arg Glu Ala Gly Tyr Tyr Gly Ala Gly | |
| 265 270 275 | |
| acc gtg gag tac ctg gtc ggt tcc gac gga ctg atc tcc ttc ctg gag | 1458 |
| Thr Val Glu Tyr Leu Val Gly Ser Asp Gly Leu Ile Ser Phe Leu Glu | |
| 280 285 290 | |
| gtc aac acc cgc ctg cag gtg gag cac ccc gtc acc gag gag acc acc | 1506 |
| Val Asn Thr Arg Leu Gln Val Glu His Pro Val Thr Glu Glu Thr Thr | |
| 295 300 305 310 | |
| ggc atc gac ctg gtg cgc gag atg ttc cgc atc gcc gag ggc gcc gag | 1554 |
| Gly Ile Asp Leu Val Arg Glu Met Phe Arg Ile Ala Glu Gly Ala Glu | |
| 315 320 325 | |
| ctc tcc atc aag gag gac ccg acc cca cgc ggc cac gcc ttc gag ttc | 1602 |
| Leu Ser Ile Lys Glu Asp Pro Thr Pro Arg Gly His Ala Phe Glu Phe | |
| 330 335 340 | |
| cgc atc aac ggc gag gac gca ggc tcc aac ttc atg ccc gca ccg ggc | 1650 |
| Arg Ile Asn Gly Glu Asp Ala Gly Ser Asn Phe Met Pro Ala Pro Gly | |
| 345 350 355 | |
| aag atc acc cgc tac cgt gag ccc gcc ggc ccg ggt gtc cgc atg gac | 1698 |
| Lys Ile Thr Arg Tyr Arg Glu Pro Ala Gly Pro Gly Val Arg Met Asp | |
| 360 365 370 | |
| tcc ggc gtt gtc gag ggt tcc gag atc tcc ggc cag ttc gac tcc atg | 1746 |
| Ser Gly Val Val Glu Gly Ser Glu Ile Ser Gly Gln Phe Asp Ser Met | |
| 375 380 385 390 | |
| ctg gcc aag ctg atc gtc tgg ggc cag acc cgt gag cag gcc ctg gag | 1794 |
| Leu Ala Lys Leu Ile Val Trp Gly Gln Thr Arg Glu Gln Ala Leu Glu | |
| 395 400 405 | |
| cgt tcc cgt cgt gcg ctc ggc gag tac atc gtc gag ggc atg ccg acc | 1842 |
| Arg Ser Arg Arg Ala Leu Gly Glu Tyr Ile Val Glu Gly Met Pro Thr | |
| 410 415 420 | |
| gtc atc ccg ttc cac tcc cac atc gtc tcc aac ccg gca ttc gtc ggt | 1890 |
| Val Ile Pro Phe His Ser His Ile Val Ser Asn Pro Ala Phe Val Gly | |
| 425 430 435 | |
| gac ggc gag ggc ttc gag gtc tac acc aag tgg atc gag gag gtc tgg | 1938 |
| Asp Gly Glu Gly Phe Glu Val Tyr Thr Lys Trp Ile Glu Glu Val Trp | |
| 440 445 450 | |
| gac aac ccg atc gag ccg ttc gtc gat gca gcc gac ctc gac gac gag | 1986 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

8/123

```

Asp Asn Pro Ile Glu Pro Phe Val Asp Ala Ala Asp Leu Asp Asp Glu
455                      460                      465                      470
gag aag acc ccg tcg cag aag gtc atc gtc gag atc gac ggc cgc cgc 2034
Glu Lys Thr Pro Ser Gln Lys Val Ile Val Glu Ile Asp Gly Arg Arg
                      475                      480                      485
gtc gag gtg gct ctc ccg ggc gac ctc gct ctc ggc ggt ggc gca ggt 2082
Val Glu Val Ala Leu Pro Gly Asp Leu Ala Leu Gly Gly Gly Ala Gly
                      490                      495                      500
gcc gcc aag aag aag ccg aag aag cgt cgc gca ggt ggc gcc aag gcc 2130
Ala Ala Lys Lys Lys Pro Lys Lys Arg Arg Ala Gly Gly Ala Lys Ala
                      505                      510                      515
ggt gtc tcc ggt gac tcc gtc gca gcc ccg atg cag ggc acc gtc atc 2178
Gly Val Ser Gly Asp Ser Val Ala Ala Pro Met Gln Gly Thr Val Ile
                      520                      525                      530
aag gtc aac gtt gag gac ggc gcc gag gtc tcc gag ggt gac acc gtc 2226
Lys Val Asn Val Glu Asp Gly Ala Glu Val Ser Glu Gly Asp Thr Val
535                      540                      545                      550
gtg gtt ctc gag gcc atg aag atg gag aac ccg gtc aag gcc cac aag 2274
Val Val Leu Glu Ala Met Lys Met Glu Asn Pro Val Lys Ala His Lys
                      555                      560                      565
tcc ggt acc gtc tcc ggt ctg acc atc gcc gcg ggt gag ggc gtg acc 2322
Ser Gly Thr Val Ser Gly Leu Thr Ile Ala Ala Gly Glu Gly Val Thr
                      570                      575                      580
aag ggt cag gtt ctc ctg gag atc aag taatcccttc agggaacaga 2369
Lys Gly Gln Val Leu Leu Glu Ile Lys
                      585                      590
cagccctggtt ct 2381

```

<210> 4

<211> 591

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 4

```

Val Ser Val Glu Thr Arg Lys Ile Thr Lys Val Leu Val Ala Asn Arg
 1                      5                      10                      15
Gly Glu Ile Ala Ile Arg Val Phe Arg Ala Ala Arg Asp Glu Gly Ile
                      20                      25                      30
Ala Ser Val Ala Val Tyr Ala Glu Pro Asp Ala Asp Ala Pro Phe Val
                      35                      40                      45
Glu Tyr Ala Asp Glu Ala Phe Ala Leu Gly Gly Gln Thr Ser Ala Glu
                      50                      55                      60
Ser Tyr Leu Val Ile Asp Lys Ile Ile Asp Ala Ala Arg Lys Ser Gly

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

9/123

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |
| Ala | Asp | Ala | Val | His | Pro | Gly | Tyr | Gly | Phe | Leu | Ala | Glu | Asn | Ala | Asp |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Phe | Ala | Glu | Ala | Val | Ile | Asn | Glu | Gly | Leu | Ile | Trp | Ile | Gly | Pro | Ser |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Pro | Glu | Ser | Ile | Arg | Ser | Leu | Gly | Asp | Lys | Val | Thr | Ala | Arg | His | Ile |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Ala | Asn | Asn | Ala | Asn | Ala | Pro | Met | Ala | Pro | Gly | Thr | Lys | Glu | Pro | Val |
| | 130 | | | | | 135 | | | | 140 | | | | | |
| Lys | Asp | Ala | Ala | Glu | Val | Val | Ala | Phe | Ala | Glu | Glu | Phe | Gly | Leu | Pro |
| 145 | | | | 150 | | | | | | 155 | | | | 160 | |
| Ile | Ala | Ile | Lys | Ala | Ala | Phe | Gly | Gly | Gly | Gly | Arg | Gly | Met | Lys | Val |
| | | | 165 | | | | 170 | | | | | | 175 | | |
| Ala | Tyr | Glu | Met | Asp | Glu | Val | Ala | Asp | Leu | Phe | Glu | Ser | Ala | Thr | Arg |
| | | 180 | | | | | 185 | | | | | | 190 | | |
| Glu | Ala | Thr | Ala | Ala | Phe | Gly | Arg | Gly | Glu | Cys | Phe | Val | Glu | Arg | Tyr |
| | 195 | | | | | 200 | | | | | | 205 | | | |
| Leu | Asp | Lys | Ala | Arg | His | Val | Glu | Ala | Gln | Val | Ile | Ala | Asp | Lys | His |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Gly | Asn | Val | Val | Val | Ala | Gly | Thr | Arg | Asp | Cys | Ser | Leu | Gln | Arg | Arg |
| 225 | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 | |
| Phe | Gln | Lys | Leu | Val | Glu | Glu | Ala | Pro | Ala | Pro | Phe | Leu | Thr | Asp | Glu |
| | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | | |
| Gln | Arg | Asp | Arg | Ile | His | Ser | Ser | Ala | Lys | Ala | Ile | Cys | Arg | Glu | Ala |
| | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | | |
| Gly | Tyr | Tyr | Gly | Ala | Gly | Thr | Val | Glu | Tyr | Leu | Val | Gly | Ser | Asp | Gly |
| | 275 | | | | | 280 | | | | | | 285 | | | |
| Leu | Ile | Ser | Phe | Leu | Glu | Val | Asn | Thr | Arg | Leu | Gln | Val | Glu | His | Pro |
| | 290 | | | | | 295 | | | | 300 | | | | | |
| Val | Thr | Glu | Glu | Thr | Thr | Gly | Ile | Asp | Leu | Val | Arg | Glu | Met | Phe | Arg |
| 305 | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 | |
| Ile | Ala | Glu | Gly | Ala | Glu | Leu | Ser | Ile | Lys | Glu | Asp | Pro | Thr | Pro | Arg |
| | | | 325 | | | | | 330 | | | | 335 | | | |
| Gly | His | Ala | Phe | Glu | Phe | Arg | Ile | Asn | Gly | Glu | Asp | Ala | Gly | Ser | Asn |
| | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | | |
| Phe | Met | Pro | Ala | Pro | Gly | Lys | Ile | Thr | Arg | Tyr | Arg | Glu | Pro | Ala | Gly |
| | 355 | | | | | 360 | | | | | | 365 | | | |
| Pro | Gly | Val | Arg | Met | Asp | Ser | Gly | Val | Val | Glu | Gly | Ser | Glu | Ile | Ser |
| | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | |
| Gly | Gln | Phe | Asp | Ser | Met | Leu | Ala | Lys | Leu | Ile | Val | Trp | Gly | Gln | Thr |
| 385 | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 | |
| Arg | Glu | Gln | Ala | Leu | Glu | Arg | Ser | Arg | Arg | Ala | Leu | Gly | Glu | Tyr | Ile |
| | | | 405 | | | | | 410 | | | | | 415 | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

10/123

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Glu | Gly | Met | Pro | Thr | Val | Ile | Pro | Phe | His | Ser | His | Ile | Val | Ser |
| | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | |
| Asn | Pro | Ala | Phe | Val | Gly | Asp | Gly | Glu | Gly | Phe | Glu | Val | Tyr | Thr | Lys |
| | | 435 | | | | | 440 | | | | | 445 | | | |
| Trp | Ile | Glu | Glu | Val | Trp | Asp | Asn | Pro | Ile | Glu | Pro | Phe | Val | Asp | Ala |
| | 450 | | | | | 455 | | | | | 460 | | | | |
| Ala | Asp | Leu | Asp | Asp | Glu | Glu | Lys | Thr | Pro | Ser | Gln | Lys | Val | Ile | Val |
| 465 | | | | | 470 | | | | | 475 | | | | | 480 |
| Glu | Ile | Asp | Gly | Arg | Arg | Val | Glu | Val | Ala | Leu | Pro | Gly | Asp | Leu | Ala |
| | | | 485 | | | | | | 490 | | | | | 495 | |
| Leu | Gly | Gly | Gly | Ala | Gly | Ala | Ala | Lys | Lys | Lys | Pro | Lys | Lys | Arg | Arg |
| | | 500 | | | | | 505 | | | | | | 510 | | |
| Ala | Gly | Gly | Ala | Lys | Ala | Gly | Val | Ser | Gly | Asp | Ser | Val | Ala | Ala | Pro |
| | 515 | | | | | | 520 | | | | | 525 | | | |
| Met | Gln | Gly | Thr | Val | Ile | Lys | Val | Asn | Val | Glu | Asp | Gly | Ala | Glu | Val |
| | 530 | | | | | 535 | | | | | 540 | | | | |
| Ser | Glu | Gly | Asp | Thr | Val | Val | Val | Leu | Glu | Ala | Met | Lys | Met | Glu | Asn |
| 545 | | | | | 550 | | | | | 555 | | | | | 560 |
| Pro | Val | Lys | Ala | His | Lys | Ser | Gly | Thr | Val | Ser | Gly | Leu | Thr | Ile | Ala |
| | | | 565 | | | | | 570 | | | | | | 575 | |
| Ala | Gly | Glu | Gly | Val | Thr | Lys | Gly | Gln | Val | Leu | Leu | Glu | Ile | Lys | |
| | | 580 | | | | | 585 | | | | | | 590 | | |

<210> 5

<211> 2128

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (339)..(1967)

<400> 5

gctgtcattc cgaccacatt cgccccggga tccgggctcc accacctccc ggacccatgc 60
 ccataacctg cggaaccac gggaaacacg ggaaaaaccg atctcattca gaccggcggg 120
 atccacctgt ggaacagtca gcggcgcggc catggagggc agcgacaggt gacgtccgag 180
 caccgggttc cccaccgtgg acacggcatt gatccgacac ggtggggata gtttcatgct 240
 gaaaaactat cgctgtgcag ggaggatccg gaatgtgacc tatttcatgg agaaatgatt 300
 gtggacgata cccccgggta cggtaccat tccaaaac atg acc att tcc tca cct 356

Met Thr Ile Ser Ser Pro

1

5

ttg att gac gtc gct aac ctg cca gac atc aac acc acc gcc ggc aag 404
 Leu Ile Asp Val Ala Asn Leu Pro Asp Ile Asn Thr Thr Ala Gly Lys

THIS PAGE BLANK (USPTO)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

12/123

| | |
|---|------|
| gcc acc gat gag gag gcc ctc gac tgg gtc cag gac ctc atc tcc ttc | 1124 |
| Ala Thr Asp Glu Glu Ala Leu Asp Trp Val Gln Asp Leu Ile Ser Phe | |
| 250 255 260 | |
| ctg ccc tcc aac aat cgc tcc tac gcc ccg gtg gag gag ttc gac gag | 1172 |
| Leu Pro Ser Asn Asn Arg Ser Tyr Ala Pro Val Glu Glu Phe Asp Glu | |
| 265 270 275 | |
| gag gac ggt ggc atc gcc gag aac atc acc gcc gat gac ctg aag ctg | 1220 |
| Glu Asp Gly Gly Ile Ala Glu Asn Ile Thr Ala Asp Asp Leu Lys Leu | |
| 280 285 290 | |
| gat gag atc atc ccg gat tcc gcc acc gtg ccc tat gat gtc cgc gac | 1268 |
| Asp Glu Ile Ile Pro Asp Ser Ala Thr Val Pro Tyr Asp Val Arg Asp | |
| 295 300 305 310 | |
| gtc atc cag tgc ctg acc gac gac ggt gag tac ctg gag atc cag gcc | 1316 |
| Val Ile Gln Cys Leu Thr Asp Asp Gly Glu Tyr Leu Glu Ile Gln Ala | |
| 315 320 325 | |
| gac cga gcc gag aat gtc gtc atc gcc ttc ggc cgc atc gag ggc cag | 1364 |
| Asp Arg Ala Glu Asn Val Val Ile Ala Phe Gly Arg Ile Glu Gly Gln | |
| 330 335 340 | |
| tcc gtc ggt ttc gtc gcc aac cag ccg acc cag ttc gcc ggc tgc ctg | 1412 |
| Ser Val Gly Phe Val Ala Asn Gln Pro Thr Gln Phe Ala Gly Cys Leu | |
| 345 350 355 | |
| gac atc gac tcc tcc gag aag gca gcc cgc ttc gtc cgc acc tgc gat | 1460 |
| Asp Ile Asp Ser Ser Glu Lys Ala Ala Arg Phe Val Arg Thr Cys Asp | |
| 360 365 370 | |
| gcc ttc aac atc ccg atc gtc atg ctt gtc gac gtc ccc ggc ttc ctc | 1508 |
| Ala Phe Asn Ile Pro Ile Val Met Leu Val Asp Val Pro Gly Phe Leu | |
| 375 380 385 390 | |
| ccc ggt gcc ggc cag gag tac ggc ggc atc ctg cgt cgt ggc gcc aaa | 1556 |
| Pro Gly Ala Gly Gln Glu Tyr Gly Gly Ile Leu Arg Arg Gly Ala Lys | |
| 395 400 405 | |
| ctg ctc tac gcc tac ggt gag gcc acc gtc ccg aag atc acc gtg acc | 1604 |
| Leu Leu Tyr Ala Tyr Gly Glu Ala Thr Val Pro Lys Ile Thr Val Thr | |
| 410 415 420 | |
| atg cgc aag gcc tac ggc ggt gcg tac tgt gtc atg gga tcc aag ggt | 1652 |
| Met Arg Lys Ala Tyr Gly Gly Ala Tyr Cys Val Met Gly Ser Lys Gly | |
| 425 430 435 | |
| ctg ggc gca gac atc aac ctg gcc tgg ccg acc gcg cag atc gcc gtc | 1700 |
| Leu Gly Ala Asp Ile Asn Leu Ala Trp Pro Thr Ala Gln Ile Ala Val | |
| 440 445 450 | |
| atg ggt gcc gcc ggc gcg gtc cag ttc atc tac cgc aag gag ctc atg | 1748 |
| Met Gly Ala Ala Gly Ala Val Gln Phe Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Met | |
| 455 460 465 470 | |
| gcc gct gat gcc aag ggc ctg gac acc gtc gcc ctg gcc cag tcc ttc | 1796 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

13/123

Ala Ala Asp Ala Lys Gly Leu Asp Thr Val Ala Leu Ala Gln Ser Phe
 475 480 485
 gag cgt gag tac gag gac cac atg ctc aac ccg tac ctg gcg gcc gag 1844
 Glu Arg Glu Tyr Glu Asp His Met Leu Asn Pro Tyr Leu Ala Ala Glu
 490 495 500
 cgt ggc ctc atc gac gcg gtg atc ctg ccg tcc gag acc cgt ggc cag 1892
 Arg Gly Leu Ile Asp Ala Val Ile Leu Pro Ser Glu Thr Arg Gly Gln
 505 510 515
 atc gca cgc aac ctg cgt ctg ctc aag cac aag aat gtc tcc cgc cct 1940
 Ile Ala Arg Asn Leu Arg Leu Leu Lys His Lys Asn Val Ser Arg Pro
 520 525 530
 gcc cgc aag cac ggc aac atg cca ctg taagcaccgc ggaccacccc 1987
 Ala Arg Lys His Gly Asn Met Pro Leu
 535 540
 ctacgcccgc acccagggc ctttgcctggc aggtgcgggc gctgtgcgtt ttccgcgcct 2047
 gccgacgcc ggccccctgc cctgtgatgc gatctgcgga tgtgatctgc gcccgcgcca 2107
 actccccctg ttgaaccctg c 2128

<210> 6

<211> 543

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 6

Met Thr Ile Ser Ser Pro Leu Ile Asp Val Ala Asn Leu Pro Asp Ile
 1 5 10 15
 Asn Thr Thr Ala Gly Lys Ile Ala Asp Leu Lys Ala Arg Arg Ala Glu
 20 25 30
 Ala His Phe Pro Met Gly Glu Lys Ala Val Glu Lys Val His Ala Ala
 35 40 45
 Asn Arg Leu Thr Ala Arg Glu Arg Leu Asp Tyr Leu Leu Asp Glu Gly
 50 55 60
 Ser Phe Ile Glu Thr Asp Gln Leu Ala Arg His Arg Thr Thr Ala Phe
 65 70 75 80
 Gly Leu Gly Asn Lys Arg Pro Ala Thr Asp Gly Ile Val Thr Gly Trp
 85 90 95
 Gly Thr Ile Asp Gly Arg Glu Val Cys Ile Phe Ser Gln Asp Gly Thr
 100 105 110
 Val Phe Gly Gly Ala Leu Gly Glu Val Tyr Gly Glu Lys Met Ile Lys
 115 120 125
 Ile Met Glu Leu Ala Ile Asp Thr Gly Arg Pro Leu Ile Gly Leu Tyr
 130 135 140
 Glu Gly Ala Gly Ala Arg Ile Gln Asp Gly Ala Val Ser Leu Asp Phe

THIS PAGE BLANK (USPTO)

14/123

| | | | | | | |
|---|--|-----|--|-----|--|-----|
| 145 | | 150 | | 155 | | 160 |
| Ile Ser Gln Thr Phe Tyr Gln Asn Ile Gln Ala Ser Gly Val Ile Pro | | | | | | |
| | | 165 | | 170 | | 175 |
| Gln Ile Ser Val Ile Met Gly Ala Cys Ala Gly Gly Asn Ala Tyr Gly | | | | | | |
| | | 180 | | 185 | | 190 |
| Pro Ala Leu Thr Asp Phe Val Val Met Val Asp Lys Thr Ser Lys Met | | | | | | |
| | | 195 | | 200 | | 205 |
| Phe Val Thr Gly Pro Asp Val Ile Lys Thr Val Thr Gly Glu Glu Ile | | | | | | |
| | | 210 | | 215 | | 220 |
| Thr Gln Glu Glu Leu Gly Gly Ala Thr Thr His Met Val Thr Ala Gly | | | | | | |
| | | 225 | | 230 | | 235 |
| Asn Ser His Tyr Thr Val Ala Thr Asp Glu Glu Ala Leu Asp Trp Val | | | | | | |
| | | 245 | | 250 | | 255 |
| Gln Asp Leu Ile Ser Phe Leu Pro Ser Asn Asn Arg Ser Tyr Ala Pro | | | | | | |
| | | 260 | | 265 | | 270 |
| Val Glu Glu Phe Asp Glu Glu Asp Gly Gly Ile Ala Glu Asn Ile Thr | | | | | | |
| | | 275 | | 280 | | 285 |
| Ala Asp Asp Leu Lys Leu Asp Glu Ile Ile Pro Asp Ser Ala Thr Val | | | | | | |
| | | 290 | | 295 | | 300 |
| Pro Tyr Asp Val Arg Asp Val Ile Gln Cys Leu Thr Asp Asp Gly Glu | | | | | | |
| | | 305 | | 310 | | 315 |
| Tyr Leu Glu Ile Gln Ala Asp Arg Ala Glu Asn Val Val Ile Ala Phe | | | | | | |
| | | 325 | | 330 | | 335 |
| Gly Arg Ile Glu Gly Gln Ser Val Gly Phe Val Ala Asn Gln Pro Thr | | | | | | |
| | | 340 | | 345 | | 350 |
| Gln Phe Ala Gly Cys Leu Asp Ile Asp Ser Ser Glu Lys Ala Ala Arg | | | | | | |
| | | 355 | | 360 | | 365 |
| Phe Val Arg Thr Cys Asp Ala Phe Asn Ile Pro Ile Val Met Leu Val | | | | | | |
| | | 370 | | 375 | | 380 |
| Asp Val Pro Gly Phe Leu Pro Gly Ala Gly Gln Glu Tyr Gly Gly Ile | | | | | | |
| | | 385 | | 390 | | 395 |
| Leu Arg Arg Gly Ala Lys Leu Leu Tyr Ala Tyr Gly Glu Ala Thr Val | | | | | | |
| | | 405 | | 410 | | 415 |
| Pro Lys Ile Thr Val Thr Met Arg Lys Ala Tyr Gly Gly Ala Tyr Cys | | | | | | |
| | | 420 | | 425 | | 430 |
| Val Met Gly Ser Lys Gly Leu Gly Ala Asp Ile Asn Leu Ala Trp Pro | | | | | | |
| | | 435 | | 440 | | 445 |
| Thr Ala Gln Ile Ala Val Met Gly Ala Ala Gly Ala Val Gln Phe Ile | | | | | | |
| | | 450 | | 455 | | 460 |
| Tyr Arg Lys Glu Leu Met Ala Ala Asp Ala Lys Gly Leu Asp Thr Val | | | | | | |
| | | 465 | | 470 | | 475 |
| Ala Leu Ala Gln Ser Phe Glu Arg Glu Tyr Glu Asp His Met Leu Asn | | | | | | |
| | | 485 | | 490 | | 495 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Pro | Tyr | Leu | Ala | Ala | Glu | Arg | Gly | Leu | Ile | Asp | Ala | Val | Ile | Leu | Pro |
| | | | 500 | | | | | 505 | | | | | 510 | | |
| Ser | Glu | Thr | Arg | Gly | Gln | Ile | Ala | Arg | Asn | Leu | Arg | Leu | Leu | Lys | His |
| | | 515 | | | | | 520 | | | | | 525 | | | |
| Lys | Asn | Val | Ser | Arg | Pro | Ala | Arg | Lys | His | Gly | Asn | Met | Pro | Leu | |
| | 530 | | | | | 535 | | | | | 540 | | | | |

| | |
|--|--------------|
| <400> | 7 |
| acgccccggcc ccttgccctg tgatgcgate tgcggatgtg atctgegcc ggcceaacte | 60 |
| ccctggttga accctgccac atacacctgag tcgcacctgg gtgggggtcac ttteccaccte | 120 |
| acgggggggga ggaggtcaca taggccatac gctgcacttt tgatgaagtg tgggcagate | 180 |
| gaccggggcaa atctgggaaa taaggggcct ggtgaactag cattecccctt agcgaagggt | 240 |
| gagcategcg gaccccgca tgteccaacc ggtegtaaat tcatgtgccg ccacagtcce | 300 |
| ctcaccaggg gatecgaacc agcccagect gattecggcg tgacggacct cacctgtaac | 360 |
| aagtecccgc attactcaca gaactcacac caggatttag actaagaaac c atg act | 417 |
| | Met Thr 1 |
| gca gca acg aca gca cct gat ctg acc acc acc gcc ggc aaa ctc gcg | 465 |
| Ala Ala Thr Thr Ala Pro Asp Leu Thr Thr Thr Ala Gly Lys Leu Ala | |
| 5 10 15 | |
| gat ctc cgc gcc cgc ctt tcc gag acc cag gcc ccc atg ggt cag gcc | 513 |
| Asp Leu Arg Ala Arg Leu Ser Glu Thr Gln Ala Pro Met Gly Gln Ala | |
| 20 25 30 | |
| tcc gtg gag aag gtg cac gag gca ggg aag aag acc gca cgc gag cgc | 561 |
| Ser Val Glu Lys Val His Glu Ala Gly Lys Lys Thr Ala Arg Glu Arg | |
| 35 40 45 50 | |
| atc gag tac ctg ctc gat gag ggc tcc ttc gtt gag gtc gat gcc ctc | 609 |
| Ile Glu Tyr Leu Leu Asp Glu Gly Ser Phe Val Glu Val Asp Ala Leu | |
| 55 60 65 | |
| gcc cgc cac cgt tcc aag aac ttc ggc ctg gac tcc aag cgc ccg gtc | 657 |
| Ala Arg His Arg Ser Lys Asn Phe Gly Leu Asp Ser Lys Arg Pro Val | |
| 70 75 80 | |
| acc gac ggt gtg gtc acc ggt tac ggc acc atc gac gga cgc aag gtc | 705 |
| Thr Asp Gly Val Val Thr Gly Tyr Gly Thr Ile Asp Gly Arg Lys Val | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

16/123

| 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| tgc | gtc | ttc | tcc | cag | gac | ggc | gct | atc | ttc | ggc | ggg | gcc | ctc | ggg | gag | 753 |
| Cys | Val | Phe | Ser | Gln | Asp | Gly | Ala | Ile | Phe | Gly | Gly | Ala | Leu | Gly | Glu | |
| 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | | | | |
| gtc | tac | ggc | gag | aag | atc | gtc | aag | atc | atg | gac | ctg | gcc | atc | aag | acc | 801 |
| Val | Tyr | Gly | Glu | Lys | Ile | Val | Lys | Ile | Met | Asp | Leu | Ala | Ile | Lys | Thr | |
| 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | | 130 | |
| ggg | gtc | ccc | ctc | atc | ggc | atc | aac | gag | ggc | gcc | ggc | gcc | cgc | atc | cag | 849 |
| Gly | Val | Pro | Leu | Ile | Gly | Ile | Asn | Glu | Gly | Ala | Gly | Ala | Arg | Ile | Gln | |
| 135 | | | | | 140 | | | | | 145 | | | | | | |
| gaa | ggc | gtt | gtc | tcc | ctg | ggc | ctg | tac | tcc | cag | atc | ttc | tac | cgc | aac | 897 |
| Glu | Gly | Val | Val | Ser | Leu | Gly | Leu | Tyr | Ser | Gln | Ile | Phe | Tyr | Arg | Asn | |
| 150 | | | | | 155 | | | | | 160 | | | | | | |
| acc | cag | gca | tcc | ggg | gtc | atc | cca | cag | atc | tcc | ctc | atc | atg | ggg | gcc | 945 |
| Thr | Gln | Ala | Ser | Gly | Val | Ile | Pro | Gln | Ile | Ser | Leu | Ile | Met | Gly | Ala | |
| 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | | | | | | |
| tgc | gcc | ggg | ggc | cat | gtg | tac | tcc | ccc | gcc | ctg | acc | gac | ttc | atc | atc | 993 |
| Cys | Ala | Gly | Gly | His | Val | Tyr | Ser | Pro | Ala | Leu | Thr | Asp | Phe | Ile | Ile | |
| 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | | | | | |
| atg | gtg | gac | aag | acc | tcc | aag | atg | ttc | atc | acc | ggc | ccc | gac | gtg | atc | 1041 |
| Met | Val | Asp | Lys | Thr | Ser | Lys | Met | Phe | Ile | Thr | Gly | Pro | Asp | Val | Ile | |
| 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | | | 210 | |
| aag | acc | gtc | acc | ggc | gag | gag | gtc | acc | cag | gag | gaa | ctg | ggg | ggg | gcc | 1089 |
| Lys | Thr | Val | Thr | Gly | Glu | Glu | Val | Thr | Gln | Glu | Glu | Leu | Gly | Gly | Ala | |
| 215 | | | | | 220 | | | | | 225 | | | | | | |
| tac | acc | cac | atg | gcc | cag | tcc | ggc | acc | tgc | cac | tac | acc | gca | gcc | gat | 1137 |
| Tyr | Thr | His | Met | Ala | Gln | Ser | Gly | Thr | Ser | His | Tyr | Thr | Ala | Ala | Asp | |
| 230 | | | | | 235 | | | | | 240 | | | | | | |
| gac | tcc | gat | gcc | ctc | gac | tgg | gtc | cgt | gag | ctg | gtc | agc | tac | ctg | ccg | 1185 |
| Asp | Ser | Asp | Ala | Leu | Asp | Trp | Val | Arg | Glu | Leu | Val | Ser | Tyr | Leu | Pro | |
| 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | | | | | | |
| tcc | aac | aac | cgt | gcg | gag | acc | cca | cgc | cag | gac | gcc | gac | atc | atg | gtg | 1233 |
| Ser | Asn | Asn | Arg | Ala | Glu | Thr | Pro | Arg | Gln | Asp | Ala | Asp | Ile | Met | Val | |
| 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | | | | | |
| ggc | tcc | atc | aag | gag | aac | atc | acc | gag | acc | gac | ctc | gaa | ctc | gac | acc | 1281 |
| Gly | Ser | Ile | Lys | Glu | Asn | Ile | Thr | Glu | Thr | Asp | Leu | Glu | Leu | Asp | Thr | |
| 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | | | 290 | |
| ctg | atc | ccg | gat | tcc | ccg | aac | cag | ccg | tac | gac | atg | aag | gac | gtc | atc | 1329 |
| Leu | Ile | Pro | Asp | Ser | Pro | Asn | Gln | Pro | Tyr | Asp | Met | Lys | Asp | Val | Ile | |
| 295 | | | | | 300 | | | | | 305 | | | | | | |
| acc | cgc | atc | gtc | gat | gat | gcc | gag | ttc | ttc | gag | atc | cag | gag | ggg | tac | 1377 |
| Thr | Arg | Ile | Val | Asp | Asp | Ala | Glu | Phe | Phe | Glu | Ile | Gln | Glu | Gly | Tyr | |
| 310 | | | | | 315 | | | | | 320 | | | | | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

17/123

| | |
|---|------|
| gcc gag aac atc atc tgc ggt ttc gcc cgc gtc gag ggt cgt gcc gtg | 1425 |
| Ala Glu Asn Ile Ile Cys Gly Phe Ala Arg Val Glu Gly Arg Ala Val | |
| 325 330 335 | |
| ggt atc gtg gcc aac cag ccg atg cag ttc gcc ggc tgc ctg gac atc | 1473 |
| Gly Ile Val Ala Asn Gln Pro Met Gln Phe Ala Gly Cys Leu Asp Ile | |
| 340 345 350 | |
| aag gca tcc gag aag gcc gcc cgc ttc atc cgc acc tgt gac gcc ttc | 1521 |
| Lys Ala Ser Glu Lys Ala Ala Arg Phe Ile Arg Thr Cys Asp Ala Phe | |
| 355 360 365 370 | |
| aac atc ccg atc atc gag ctt gtc gac gtc cca ggc ttc ctc ccg ggc | 1569 |
| Asn Ile Pro Ile Ile Glu Leu Val Asp Val Pro Gly Phe Leu Pro Gly | |
| 375 380 385 | |
| acc aac cag gag ttc gac ggc atc atc cgt cgc ggc gcg aag ctg ctc | 1617 |
| Thr Asn Gln Glu Phe Asp Gly Ile Ile Arg Arg Gly Ala Lys Leu Leu | |
| 390 395 400 | |
| tac gcc tac gcc gag gcc acc gtc ggc aag atc acc gtg atc acc cgc | 1665 |
| Tyr Ala Tyr Ala Glu Ala Thr Val Gly Lys Ile Thr Val Ile Thr Arg | |
| 405 410 415 | |
| aag tcc tac ggc ggt gcc tac tgc gtg atg ggc tcc aag gac atg ggt | 1713 |
| Lys Ser Tyr Gly Gly Ala Tyr Cys Val Met Gly Ser Lys Asp Met Gly | |
| 420 425 430 | |
| gcg gac ctc gtc ttc gca tgg ccc acc gcg cag atc gcc gtc atg ggt | 1761 |
| Ala Asp Leu Val Phe Ala Trp Pro Thr Ala Gln Ile Ala Val Met Gly | |
| 435 440 445 450 | |
| gcc tcc ggt gcc gtc ggc ttc atc tac cgc aag gag ctc aag cag gct | 1809 |
| Ala Ser Gly Ala Val Gly Phe Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Lys Gln Ala | |
| 455 460 465 | |
| gca gcg gcc ggc gag gat gtc acc gcg ctg atg aag aag tac gag cag | 1857 |
| Ala Ala Ala Gly Glu Asp Val Thr Ala Leu Met Lys Lys Tyr Glu Gln | |
| 470 475 480 | |
| gag tac gag gag acc ctg gtc aac ccg tac atg gct gca gag cgt ggc | 1905 |
| Glu Tyr Glu Glu Thr Leu Val Asn Pro Tyr Met Ala Ala Glu Arg Gly | |
| 485 490 495 | |
| tac gtc gac gcc gtc atc cca cca tcc gag acc cgt ggt cag atc atc | 1953 |
| Tyr Val Asp Ala Val Ile Pro Pro Ser Glu Thr Arg Gly Gln Ile Ile | |
| 500 505 510 | |
| gag ggt ctg cgt ctg ctc gac cgc aag gtg gtc aac gtc ccg gcc aag | 2001 |
| Glu Gly Leu Arg Leu Leu Asp Arg Lys Val Val Asn Val Pro Ala Lys | |
| 515 520 525 530 | |
| aag cac ggt aac atc ccg ctg taaaccgtct tcccctccgg caccacgccg | 2052 |
| Lys His Gly Asn Ile Pro Leu | |
| 535 | |
| gagaaggctt tgtccgcagc tgtc | 2076 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<210> 8

<211> 537

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 8

```

Met Thr Ala Ala Thr Thr Ala Pro Asp Leu Thr Thr Thr Ala Gly Lys
 1           5           10           15
Leu Ala Asp Leu Arg Ala Arg Leu Ser Glu Thr Gln Ala Pro Met Gly
      20           25           30
Gln Ala Ser Val Glu Lys Val His Glu Ala Gly Lys Lys Thr Ala Arg
      35           40           45
Glu Arg Ile Glu Tyr Leu Leu Asp Glu Gly Ser Phe Val Glu Val Asp
      50           55           60
Ala Leu Ala Arg His Arg Ser Lys Asn Phe Gly Leu Asp Ser Lys Arg
      65           70           75           80
Pro Val Thr Asp Gly Val Val Thr Gly Tyr Gly Thr Ile Asp Gly Arg
      85           90           95
Lys Val Cys Val Phe Ser Gln Asp Gly Ala Ile Phe Gly Gly Ala Leu
      100          105          110
Gly Glu Val Tyr Gly Glu Lys Ile Val Lys Ile Met Asp Leu Ala Ile
      115          120          125
Lys Thr Gly Val Pro Leu Ile Gly Ile Asn Glu Gly Ala Gly Ala Arg
      130          135          140
Ile Gln Glu Gly Val Val Ser Leu Gly Leu Tyr Ser Gln Ile Phe Tyr
      145          150          155          160
Arg Asn Thr Gln Ala Ser Gly Val Ile Pro Gln Ile Ser Leu Ile Met
      165          170          175
Gly Ala Cys Ala Gly Gly His Val Tyr Ser Pro Ala Leu Thr Asp Phe
      180          185          190
Ile Ile Met Val Asp Lys Thr Ser Lys Met Phe Ile Thr Gly Pro Asp
      195          200          205
Val Ile Lys Thr Val Thr Gly Glu Glu Val Thr Gln Glu Glu Leu Gly
      210          215          220
Gly Ala Tyr Thr His Met Ala Gln Ser Gly Thr Ser His Tyr Thr Ala
      225          230          235          240
Ala Asp Asp Ser Asp Ala Leu Asp Trp Val Arg Glu Leu Val Ser Tyr
      245          250          255
Leu Pro Ser Asn Asn Arg Ala Glu Thr Pro Arg Gln Asp Ala Asp Ile
      260          265          270
Met Val Gly Ser Ile Lys Glu Asn Ile Thr Glu Thr Asp Leu Glu Leu
      275          280          285

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

19/123

```

Asp Thr Leu Ile Pro Asp Ser Pro Asn Gln Pro Tyr Asp Met Lys Asp
290                               295                               300
Val Ile Thr Arg Ile Val Asp Asp Ala Glu Phe Phe Glu Ile Gln Glu
305                               310                               315                               320
Gly Tyr Ala Glu Asn Ile Ile Cys Gly Phe Ala Arg Val Glu Gly Arg
                               325                               330                               335
Ala Val Gly Ile Val Ala Asn Gln Pro Met Gln Phe Ala Gly Cys Leu
                               340                               345                               350
Asp Ile Lys Ala Ser Glu Lys Ala Ala Arg Phe Ile Arg Thr Cys Asp
                               355                               360                               365
Ala Phe Asn Ile Pro Ile Ile Glu Leu Val Asp Val Pro Gly Phe Leu
                               370                               375                               380
Pro Gly Thr Asn Gln Glu Phe Asp Gly Ile Ile Arg Arg Gly Ala Lys
385                               390                               395                               400
Leu Leu Tyr Ala Tyr Ala Glu Ala Thr Val Gly Lys Ile Thr Val Ile
                               405                               410                               415
Thr Arg Lys Ser Tyr Gly Gly Ala Tyr Cys Val Met Gly Ser Lys Asp
                               420                               425                               430
Met Gly Ala Asp Leu Val Phe Ala Trp Pro Thr Ala Gln Ile Ala Val
                               435                               440                               445
Met Gly Ala Ser Gly Ala Val Gly Phe Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Lys
                               450                               455                               460
Gln Ala Ala Ala Ala Gly Glu Asp Val Thr Ala Leu Met Lys Lys Tyr
465                               470                               475                               480
Glu Gln Glu Tyr Glu Glu Thr Leu Val Asn Pro Tyr Met Ala Ala Glu
                               485                               490                               495
Arg Gly Tyr Val Asp Ala Val Ile Pro Pro Ser Glu Thr Arg Gly Gln
                               500                               505                               510
Ile Ile Glu Gly Leu Arg Leu Leu Asp Arg Lys Val Val Asn Val Pro
                               515                               520                               525
Ala Lys Lys His Gly Asn Ile Pro Leu
                               530                               535

```

<210> 9

<211> 1643

<212> DNA

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<220>

<221> CDS

<222> (326)..(1363)

<400> 9

THIS PAGE BLANK (USPTO)

20/123

```

agecgcgccgg cagccaccag tgggategtg cccagcggac ggatgccgga ttcacggcgg 60
tcagccaccc gccgatgaga cctgcagcga caacgggtggc ggtgctgacc tggtcagcgt 120
ctttgagttt catatccatg tcagacagtc taaccactct ctccgacgcg tccgaacatg 180
ctgggggtggc ggacaccatg tccgttcggg cgttgccccg acgggggaaa atcgcaggca 240
gatgtgtccg atgtgggata aaccacccgg ttcgggcgtg tcttcgggat caatggcaca 300
gcattaaccg tgtggggggg ttaat atg gga gcc atg cga att gcc act ctc 352
          Met Gly Ala Met Arg Ile Ala Thr Leu
                1                      5
acg tca ggc ggc gac tgc ccc gga ctc aat gct gtc atc agg gga atc 400
Thr Ser Gly Gly Asp Cys Pro Gly Leu Asn Ala Val Ile Arg Gly Ile
  10                15                20                25
gtc cgt acc gca agt aat gaa ttc ggt tcc acc gtc gtg ggt tat cag 448
Val Arg Thr Ala Ser Asn Glu Phe Gly Ser Thr Val Val Gly Tyr Gln
                30                35                40
gac ggc tgg gag ggc ctg ctg gcg gac cga cgt gtt cag ctc tat gac 496
Asp Gly Trp Glu Gly Leu Leu Ala Asp Arg Arg Val Gln Leu Tyr Asp
                45                50                55
gat gag gac atc gac cgc atc ctg ctc cgc ggt gga aca atc ctg ggc 544
Asp Glu Asp Ile Asp Arg Ile Leu Leu Arg Gly Gly Thr Ile Leu Gly
  60                65                70
acc ggt cgt ctc cac ccc gac aag ttc aga gcc gga atc gac cag gtc 592
Thr Gly Arg Leu His Pro Asp Lys Phe Arg Ala Gly Ile Asp Gln Val
  75                80                85
aag gcg aat ctc gcc gat gcg gga att gac gca ctc atc ccg atc ggt 640
Lys Ala Asn Leu Ala Asp Ala Gly Ile Asp Ala Leu Ile Pro Ile Gly
  90                95                100                105
ggc gag ggc acc ctc aag gga gcg aag tgg ctc gcc gac aac ggc atc 688
Gly Glu Gly Thr Leu Lys Gly Ala Lys Trp Leu Ala Asp Asn Gly Ile
                110                115                120
ccc gtg gtc ggt gtc ccg aaa acc atc gac aat gat gtc aac ggc acg 736
Pro Val Val Gly Val Pro Lys Thr Ile Asp Asn Asp Val Asn Gly Thr
                125                130                135
gat ttc acc ttc ggt ttc gat tcc gcg gtc tct gtg gcc acc gac gcc 784
Asp Phe Thr Phe Gly Phe Asp Ser Ala Val Ser Val Ala Thr Asp Ala
                140                145                150
atc gac cgg ctg cac acc acg gcg gaa tcc cac aac cgt gtg atg atc 832
Ile Asp Arg Leu His Thr Thr Ala Glu Ser His Asn Arg Val Met Ile
                155                160                165
gtc gag gtc atg ggc cgc cac gtc ggt tgg atc gca ctg cat gcc ggc 880
Val Glu Val Met Gly Arg His Val Gly Trp Ile Ala Leu His Ala Gly
  170                175                180                185
atg gcc ggt gga gcc cac tac acc gtc atc ccc gag gtg ccc ttc gac 928
Met Ala Gly Gly Ala His Tyr Thr Val Ile Pro Glu Val Pro Phe Asp

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

21/123

| | | | | |
|---|-----|-----|-----|------|
| | 190 | 195 | 200 | |
| atc tgc gag atc tgc aag cgt atg gaa cgt cgc ttc cag atg ggg gag | | | | 976 |
| Ile Ser Glu Ile Cys Lys Arg Met Glu Arg Arg Phe Gln Met Gly Glu | | | | |
| | 205 | 210 | 215 | |
| aag tac ggc atc atc gtc gtc gcg gag ggt gcc ctg ccc aag gag gga | | | | 1024 |
| Lys Tyr Gly Ile Ile Val Val Ala Glu Gly Ala Leu Pro Lys Glu Gly | | | | |
| | 220 | 225 | 230 | |
| acc atg gag ctg cgt gag ggg gag gtg gat cag ttc ggt cac aag acc | | | | 1072 |
| Thr Met Glu Leu Arg Glu Gly Glu Val Asp Gln Phe Gly His Lys Thr | | | | |
| | 235 | 240 | 245 | |
| ttc acc ggc atc ggc cag cag atc gcc gac gag gtg cac agg cgt ctg | | | | 1120 |
| Phe Thr Gly Ile Gly Gln Gln Ile Ala Asp Glu Val His Arg Arg Leu | | | | |
| | 250 | 255 | 260 | 265 |
| ggt cat gat gtc cgc acc acg gtc ctg ggc cat atc cag cgt ggt ggc | | | | 1168 |
| Gly His Asp Val Arg Thr Thr Val Leu Gly His Ile Gln Arg Gly Gly | | | | |
| | 270 | 275 | 280 | |
| acc ccc acc gcc ttc gac cgt gtc ctg gcc acc cgg tac ggt gtc cgc | | | | 1216 |
| Thr Pro Thr Ala Phe Asp Arg Val Leu Ala Thr Arg Tyr Gly Val Arg | | | | |
| | 285 | 290 | 295 | |
| gcc gcg cgt gcc tgc cac gag ggt cag ttc aac acc gtg gtc gcg etc | | | | 1264 |
| Ala Ala Arg Ala Cys His Glu Gly Gln Phe Asn Thr Val Val Ala Leu | | | | |
| | 300 | 305 | 310 | |
| aag ggg gag cgc atc cgg atg atc tcc ttc gat gag gcc gtg ggc acc | | | | 1312 |
| Lys Gly Glu Arg Ile Arg Met Ile Ser Phe Asp Glu Ala Val Gly Thr | | | | |
| | 315 | 320 | 325 | |
| ctg aag aag gtg ccg atg gaa cgc tgg gtg acc gcc cag gct atg ttc | | | | 1360 |
| Leu Lys Lys Val Pro Met Glu Arg Trp Val Thr Ala Gln Ala Met Phe | | | | |
| | 330 | 335 | 340 | 345 |
| ggt tagtcaggcc gcattcccgg ttccgcgccc gcggggccgg gttttttcat | | | | 1413 |
| Gly | | | | |
| gccccggaac acatcggtat gaaatcgtga tatgcattac ttgacgggga agtgggggat | | | | 1473 |
| ccgtcacctc gcgttgteca actacagecc gcagcgctg cgggaattct tegagcaatc | | | | 1533 |
| cgccgattcc ccggcccgtc ccgtcgccgt ccaaccgcag tacaatctgc tggcccgccg | | | | 1593 |
| ggattatgag accggtatcc gcccggtcgt ggacgagttc ggtcccgcgg | | | | 1643 |

<210> 10

<211> 346

<212> PRT

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<400> 10

Met Gly Ala Met Arg Ile Ala Thr Leu Thr Ser Gly Gly Asp Cys Pro

1

5

10

15

THIS PAGE BLANK (USPTO)

22/123

Gly Leu Asn Ala Val Ile Arg Gly Ile Val Arg Thr Ala Ser Asn Glu
 20 25 30
 Phe Gly Ser Thr Val Val Gly Tyr Gln Asp Gly Trp Glu Gly Leu Leu
 35 40 45
 Ala Asp Arg Arg Val Gln Leu Tyr Asp Asp Glu Asp Ile Asp Arg Ile
 50 55 60
 Leu Leu Arg Gly Gly Thr Ile Leu Gly Thr Gly Arg Leu His Pro Asp
 65 70 75 80
 Lys Phe Arg Ala Gly Ile Asp Gln Val Lys Ala Asn Leu Ala Asp Ala
 85 90 95
 Gly Ile Asp Ala Leu Ile Pro Ile Gly Gly Glu Gly Thr Leu Lys Gly
 100 105 110
 Ala Lys Trp Leu Ala Asp Asn Gly Ile Pro Val Val Gly Val Pro Lys
 115 120 125
 Thr Ile Asp Asn Asp Val Asn Gly Thr Asp Phe Thr Phe Gly Phe Asp
 130 135 140
 Ser Ala Val Ser Val Ala Thr Asp Ala Ile Asp Arg Leu His Thr Thr
 145 150 155 160
 Ala Glu Ser His Asn Arg Val Met Ile Val Glu Val Met Gly Arg His
 165 170 175
 Val Gly Trp Ile Ala Leu His Ala Gly Met Ala Gly Gly Ala His Tyr
 180 185 190
 Thr Val Ile Pro Glu Val Pro Phe Asp Ile Ser Glu Ile Cys Lys Arg
 195 200 205
 Met Glu Arg Arg Phe Gln Met Gly Glu Lys Tyr Gly Ile Ile Val Val
 210 215 220
 Ala Glu Gly Ala Leu Pro Lys Glu Gly Thr Met Glu Leu Arg Glu Gly
 225 230 235 240
 Glu Val Asp Gln Phe Gly His Lys Thr Phe Thr Gly Ile Gly Gln Gln
 245 250 255
 Ile Ala Asp Glu Val His Arg Arg Leu Gly His Asp Val Arg Thr Thr
 260 265 270
 Val Leu Gly His Ile Gln Arg Gly Gly Thr Pro Thr Ala Phe Asp Arg
 275 280 285
 Val Leu Ala Thr Arg Tyr Gly Val Arg Ala Ala Arg Ala Cys His Glu
 290 295 300
 Gly Gln Phe Asn Thr Val Val Ala Leu Lys Gly Glu Arg Ile Arg Met
 305 310 315 320
 Ile Ser Phe Asp Glu Ala Val Gly Thr Leu Lys Lys Val Pro Met Glu
 325 330 335
 Arg Trp Val Thr Ala Gln Ala Met Phe Gly
 340 345

THIS PAGE BLANK (USPTO)

23/123

<210> 11

<211> 498

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(498)

<400> 11

| | |
|---|-----|
| tac tac cag cac gat cca ggt ttc ccc ttc gca cca aag cgc acc ggt | 48 |
| Tyr Tyr Gln His Asp Pro Gly Phe Pro Phe Ala Pro Lys Arg Thr Gly | |
| 1 5 10 15 | |
| tgg gct cac acc acc acc acg ccg ttg acc gga ccg cag cga ttg cag tgg | 96 |
| Trp Ala His Thr Thr Thr Pro Leu Thr Gly Pro Gln Arg Leu Gln Trp | |
| 20 25 30 | |
| acg cac ctg ccc gat gct ctt tac ccg gat gta tcc tat gac ctg gat | 144 |
| Thr His Leu Pro Asp Ala Leu Tyr Pro Asp Val Ser Tyr Asp Leu Asp | |
| 35 40 45 | |
| gga tgc tat tcc ggc gga gcc gta ttt tct gac ggc acc ctt aaa ctt | 192 |
| Gly Cys Tyr Ser Gly Gly Ala Val Phe Ser Asp Gly Thr Leu Lys Leu | |
| 50 55 60 | |
| ttc tac acc ggc aac cga aaa att gac ggc aag cgc cgc gcc acc caa | 240 |
| Phe Tyr Thr Gly Asn Arg Lys Ile Asp Gly Lys Arg Arg Ala Thr Gln | |
| 65 70 75 80 | |
| aac ctc gtc gaa gtc gag gac cca act ggg ctg atg ggc ggc att cat | 288 |
| Asn Leu Val Glu Val Glu Asp Pro Thr Gly Leu Met Gly Gly Ile His | |
| 85 90 95 | |
| cgc cgc tcg cct aaa aat ccg ctt atc gac gga ccc gcc agc ggt ttt | 336 |
| Arg Arg Ser Pro Lys Asn Pro Leu Ile Asp Gly Pro Ala Ser Gly Phe | |
| 100 105 110 | |
| acg ccc cac tac cgc gat ccc atg atc agc cct gat ggg gat ggt tgg | 384 |
| Thr Pro His Tyr Arg Asp Pro Met Ile Ser Pro Asp Gly Asp Gly Trp | |
| 115 120 125 | |
| aag atg gtt ctt ggg gct cag cgc gaa aac ctc acc ggt gca gcg gtt | 432 |
| Lys Met Val Leu Gly Ala Gln Arg Glu Asn Leu Thr Gly Ala Ala Val | |
| 130 135 140 | |
| cta tac cgc tcg gca gat ctt gaa aac tgg gaa ttc tcc ggt gaa atc | 480 |
| Leu Tyr Arg Ser Ala Asp Leu Glu Asn Trp Glu Phe Ser Gly Glu Ile | |
| 145 150 155 160 | |
| acc ttt gac ctc agc gac | 498 |
| Thr Phe Asp Leu Ser Asp | |
| 165 | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

24/123

<210> 12

<211> 166

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 12

```

Tyr Tyr Gln His Asp Pro Gly Phe Pro Phe Ala Pro Lys Arg Thr Gly
  1             5             10             15
Trp Ala His Thr Thr Thr Pro Leu Thr Gly Pro Gln Arg Leu Gln Trp
             20             25             30
Thr His Leu Pro Asp Ala Leu Tyr Pro Asp Val Ser Tyr Asp Leu Asp
             35             40             45
Gly Cys Tyr Ser Gly Gly Ala Val Phe Ser Asp Gly Thr Leu Lys Leu
             50             55             60
Phe Tyr Thr Gly Asn Arg Lys Ile Asp Gly Lys Arg Arg Ala Thr Gln
             65             70             75             80
Asn Leu Val Glu Val Glu Asp Pro Thr Gly Leu Met Gly Gly Ile His
             85             90             95
Arg Arg Ser Pro Lys Asn Pro Leu Ile Asp Gly Pro Ala Ser Gly Phe
             100            105            110
Thr Pro His Tyr Arg Asp Pro Met Ile Ser Pro Asp Gly Asp Gly Trp
             115            120            125
Lys Met Val Leu Gly Ala Gln Arg Glu Asn Leu Thr Gly Ala Ala Val
             130            135            140
Leu Tyr Arg Ser Ala Asp Leu Glu Asn Trp Glu Phe Ser Gly Glu Ile
             145            150            155            160
Thr Phe Asp Leu Ser Asp
             165

```

<210> 13

<211> 479

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(477)

<400> 13

```

tac tac cag cac gat cca ggt ttc ccc ttc gca cca aag cgc acc ggc 48
Tyr Tyr Gln His Asp Pro Gly Phe Pro Phe Ala Pro Lys Arg Thr Gly
  1             5             10             15

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

25/123

| | |
|---|-----|
| tgg gct cac acc acc acg ccg ttg acc gga ccg cag cga ttg cag tgg | 96 |
| Trp Ala His Thr Thr Thr Pro Leu Thr Gly Pro Gln Arg Leu Gln Trp | |
| 20 25 30 | |
| acg cac ctg ccc gac gct ctt tac ccg gat gca tcc tat gac ctg gat | 144 |
| Thr His Leu Pro Asp Ala Leu Tyr Pro Asp Ala Ser Tyr Asp Leu Asp | |
| 35 40 45 | |
| gga tgc tat tcc ggt gga gcc gta ttt act gac ggc aca ctt aaa ctt | 192 |
| Gly Cys Tyr Ser Gly Gly Ala Val Phe Thr Asp Gly Thr Leu Lys Leu | |
| 50 55 60 | |
| ttc tac acc ggc aac cta aaa att gac ggc aag cgc cgc gcc acc caa | 240 |
| Phe Tyr Thr Gly Asn Leu Lys Ile Asp Gly Lys Arg Arg Ala Thr Gln | |
| 65 70 75 80 | |
| aac ctc gtc gaa gtc gag gac cca act ggg ctg atg ggc ggc att cat | 288 |
| Asn Leu Val Glu Val Glu Asp Pro Thr Gly Leu Met Gly Gly Ile His | |
| 85 90 95 | |
| cgc cgt tcg cct aaa aat ccg ctt atc gac gga ccc gcc agc ggt ttc | 336 |
| Arg Arg Ser Pro Lys Asn Pro Leu Ile Asp Gly Pro Ala Ser Gly Phe | |
| 100 105 110 | |
| aca ccc cat tac cgc gat ccc atg atc agc cct gat ggt gat ggt tgg | 384 |
| Thr Pro His Tyr Arg Asp Pro Met Ile Ser Pro Asp Gly Asp Gly Trp | |
| 115 120 125 | |
| aaa atg gtt ctt ggg gcc caa cgc gaa aac ctc acc ggt gca gcg gtt | 432 |
| Lys Met Val Leu Gly Ala Gln Arg Glu Asn Leu Thr Gly Ala Ala Val | |
| 130 135 140 | |
| cta tac cgc tcg aca gat ctt gaa aac tgg gaa ttc tcc ggt gaa at | 479 |
| Leu Tyr Arg Ser Thr Asp Leu Glu Asn Trp Glu Phe Ser Gly Glu | |
| 145 150 155 | |

<210> 14

<211> 159

<212> PRT

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<400> 14

| | |
|---|--|
| Tyr Tyr Gln His Asp Pro Gly Phe Pro Phe Ala Pro Lys Arg Thr Gly | |
| 1 5 10 15 | |
| Trp Ala His Thr Thr Thr Pro Leu Thr Gly Pro Gln Arg Leu Gln Trp | |
| 20 25 30 | |
| Thr His Leu Pro Asp Ala Leu Tyr Pro Asp Ala Ser Tyr Asp Leu Asp | |
| 35 40 45 | |
| Gly Cys Tyr Ser Gly Gly Ala Val Phe Thr Asp Gly Thr Leu Lys Leu | |
| 50 55 60 | |
| Phe Tyr Thr Gly Asn Leu Lys Ile Asp Gly Lys Arg Arg Ala Thr Gln | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

26/123

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 65 | | 70 | | 75 | | 80 | | | | | | | | | |
| Asn | Leu | Val | Glu | Val | Glu | Asp | Pro | Thr | Gly | Leu | Met | Gly | Gly | Ile | His |
| | | | 85 | | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Arg | Arg | Ser | Pro | Lys | Asn | Pro | Leu | Ile | Asp | Gly | Pro | Ala | Ser | Gly | Phe |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Thr | Pro | His | Tyr | Arg | Asp | Pro | Met | Ile | Ser | Pro | Asp | Gly | Asp | Gly | Trp |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Lys | Met | Val | Leu | Gly | Ala | Gln | Arg | Glu | Asn | Leu | Thr | Gly | Ala | Ala | Val |
| | 130 | | | | | 135 | | | | 140 | | | | | |
| Leu | Tyr | Arg | Ser | Thr | Asp | Leu | Glu | Asn | Trp | Glu | Phe | Ser | Gly | Glu | |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | |

<210> 15

<211> 490

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 15

```

attttaatgg atattatcta tattttatca atattatcct tatgcacctg aatggggacc 60
aatgcattgg ggacacgcac gtagtaaaga tttagttcat tgggaaacat taccgattgc 120
tttagaacct ggagatgaag aagaaaaatg gttgtttctc tggtagaggt atagtcaaag 180
atgataagtt gtatttattt tatacaggtc accattatta taatgacgat gatcccgatc 240
atttttggca aaatcaaaat atggettata gtgaagatgg cattcatttt caaaaatata 300
aacaaaatgc aatcattcct accccacctg aagataatac acatcacttc agagatccaa 360
aggtatggga acatccatgg cttattatta catgatagta ggtagtcaaa atgatagaga 420
attaggacgt attatcttat atcgttctga ggatttatag aggggaattc tggtcctgag 480
atcaatccaa                                     490

```

<210> 16

<211> 4254

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (637)..(1362)

<220>

<221> CDS

<222> (1434)..(2315)

<220>

<221> CDS

<222> (2432)..(3115)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<220>

<221> CDS

<222> (3235)..(4065)

<400> 16

```

tcacggcgcg cagattaccc agtgtgccgt agagacgctg atcggcattc tcacgcaccg 60
cgcaggtggt gaagacgatg agatcagggg tgtcacccctc ccccgccgcg gtgtaaccgg 120
cctcctegag cagaccggag agacgctcgg aatcgtggac gttcatctgg cagccgaagg 180
tacgcacctc ataggtgcgg gcagtgggtgc cctcccgggt ccccgcgccc gggaggggtgt 240
cggcgggggtg gtccgggtgg gatggatggg tgttcactctg gtgggtatca atctgctgcg 300
tcacgggagg taattgtatc ggccgcgggc accctgacat aaacgtccga tccagaggaa 360
cgcaaccccg tggagtgtcg cagccatgca gggtgggcaa caccgtaacg gaacctagca 420
gagtggtagg attgacttca cattctttac ctattgagct attgataaaa tccgggcgga 480
aatggaaatc acccccacaa atcaccccaa ctgacctgtg gaaagggcga gaaatccagg 540
gaaattcatt tcaaaatgga ctcaatcaca ggatttacc caccatgacc aacattcett 600
tatgctatcc ccatgaecga gaccacaaat caccgc atg atc aag atg acg ggg 654
                                Met Ile Lys Met Thr Gly
                                1                               5

gtg cag aag ttc ttc gat gac ttc cag gcc ctg acc gat atc aat ctt 702
Val Gln Lys Phe Phe Asp Asp Phe Gln Ala Leu Thr Asp Ile Asn Leu
                                10                               15                               20

gag gtc ccc gcg gga cag gtc gtt gtt gtt ctc ggc ccg tcc ggt tcc 750
Glu Val Pro Ala Gly Gln Val Val Val Val Leu Gly Pro Ser Gly Ser
                                25                               30                               35

gga aag tcg acg ctg tgc cgc acc atc aac cgc ctc gaa acc atc gag 798
Gly Lys Ser Thr Leu Cys Arg Thr Ile Asn Arg Leu Glu Thr Ile Glu
                                40                               45                               50

gag gga acc atc gag atc gat gga aaa ctg ctt ccg gag gag ggc aag 846
Glu Gly Thr Ile Glu Ile Asp Gly Lys Leu Leu Pro Glu Glu Gly Lys
                                55                               60                               65                               70

gac ctg gcc aag atc cgt gcc gac gtg ggc atg gtg ttc cag tct ttc 894
Asp Leu Ala Lys Ile Arg Ala Asp Val Gly Met Val Phe Gln Ser Phe
                                75                               80                               85

aac ctc ttc ccc cac ctc acc atc aag gac aat gtc acc ctc ggc ccg 942
Asn Leu Phe Pro His Leu Thr Ile Lys Asp Asn Val Thr Leu Gly Pro
                                90                               95                               100

atg aag gtc cgg aag atg aag aag tcc gag gcc aat gag gtg gcc atg 990
Met Lys Val Arg Lys Met Lys Lys Ser Glu Ala Asn Glu Val Ala Met
                                105                               110                               115

aag ctg ttg gaa cgc gtc ggc atc gcc aac cag gcc gag aaa tac ccg 1038
Lys Leu Leu Glu Arg Val Gly Ile Ala Asn Gln Ala Glu Lys Tyr Pro
                                120                               125                               130

gca cag ctc tcg ggc ggg cag cag cag cgc gtg gcc atc gcc cgc gca 1086

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

28/123

| | |
|---|------|
| Ala Gln Leu Ser Gly Gly Gln Gln Gln Arg Val Ala Ile Ala Arg Ala | |
| 135 140 145 150 | |
| ctg gcg atg aac ccc aag atc atg ctt ttc gac gaa cca acc tcc gcc | 1134 |
| Leu Ala Met Asn Pro Lys Ile Met Leu Phe Asp Glu Pro Thr Ser Ala | |
| 155 160 165 | |
| ctc gac ccc gag atg gtc aac gag gtt ctg gac gtc atg gcg agt ctg | 1182 |
| Leu Asp Pro Glu Met Val Asn Glu Val Leu Asp Val Met Ala Ser Leu | |
| 170 175 180 | |
| gcc aag gaa ggc atg acc atg gtg tgt gtc acc cac gag atg ggt ttc | 1230 |
| Ala Lys Glu Gly Met Thr Met Val Cys Val Thr His Glu Met Gly Phe | |
| 185 190 195 | |
| gca cgc agg gcc gca gac cgt gtg ctg ttc atg tct gac ggc gcc atc | 1278 |
| Ala Arg Arg Ala Ala Asp Arg Val Leu Phe Met Ser Asp Gly Ala Ile | |
| 200 205 210 | |
| gtc gag gac tcc gac ccg gag acc ttc ttc acc aat cca caa acc gac | 1326 |
| Val Glu Asp Ser Asp Pro Glu Thr Phe Phe Thr Asn Pro Gln Thr Asp | |
| 215 220 225 230 | |
| cgg gcg aag gat ttc ctg ggc aag atc ctc gcc cac tgacctcccc | 1372 |
| Arg Ala Lys Asp Phe Leu Gly Lys Ile Leu Ala His | |
| 235 240 | |
| tcactctgtg tccaactccc ccgctggcca aaatcagcga ccatgaccaa caggagcacc | 1432 |
| a atg tgc cac aaa cgc atg ttc acc cgt ctc gcc gca gcc acc agc gca | 1481 |
| Met Ser His Lys Arg Met Phe Thr Arg Leu Ala Ala Ala Thr Ser Ala | |
| 245 250 255 | |
| gct gtt ctc gcc ggc atc acc ctc acc gcc tgt ggt gat tcc gag ggt | 1529 |
| Ala Val Leu Ala Gly Ile Thr Leu Thr Ala Cys Gly Asp Ser Glu Gly | |
| 260 265 270 | |
| ggt gac ggt ctg ctc gcc gcc atc gaa aat ggc aat gtc acc atc ggc | 1577 |
| Gly Asp Gly Leu Leu Ala Ala Ile Glu Asn Gly Asn Val Thr Ile Gly | |
| 275 280 285 290 | |
| acc aag tac gat cag ccg ggt ctg gga ctg cgt aac ccg gac aat tcc | 1625 |
| Thr Lys Tyr Asp Gln Pro Gly Leu Gly Leu Arg Asn Pro Asp Asn Ser | |
| 295 300 305 | |
| atg agc gga ctg gat gtc gac gtc gcg cag tac gtg gtc aac tcc atc | 1673 |
| Met Ser Gly Leu Asp Val Asp Val Ala Gln Tyr Val Val Asn Ser Ile | |
| 310 315 320 | |
| gcc gat gac aac ggt tgg gat cac ccc acc gtg gaa tgg cgc gag acc | 1721 |
| Ala Asp Asp Asn Gly Trp Asp His Pro Thr Val Glu Trp Arg Glu Thr | |
| 325 330 335 | |
| ccc tcc gcc cag cgc gag acc ctc atc cag aac ggt gag gtg gat atg | 1769 |
| Pro Ser Ala Gln Arg Glu Thr Leu Ile Gln Asn Gly Glu Val Asp Met | |
| 340 345 350 | |
| atc gcc gca acc tac tcc atc aac ccc gga cgc tcc gaa tgc gtg aac | 1817 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

29/123

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|--|
| Ile | Ala | Ala | Thr | Tyr | Ser | Ile | Asn | Pro | Gly | Arg | Ser | Glu | Ser | Val | Asn | | |
| 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | | | 370 | | |
| ttc | ggt | gga | cca | tac | ctc | ctc | acc | cac | cag | gcc | ctc | ctg | gtc | cgc | gag | 1865 | |
| Phe | Gly | Gly | Pro | Tyr | Leu | Leu | Thr | His | Gln | Ala | Leu | Leu | Val | Arg | Glu | | |
| | | | | 375 | | | | | 380 | | | | | 385 | | | |
| gac | gat | gac | cgc | atc | cag | acc | ctc | gag | gac | ctc | gat | gac | ggc | ctg | atc | 1913 | |
| Asp | Asp | Asp | Arg | Ile | Gln | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Asp | Asp | Gly | Leu | Ile | | |
| | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 | | | | |
| ctg | tgt | tcc | ggt | acc | gga | tcc | acc | ccc | gcc | cag | aag | gtc | aag | gat | gtc | 1961 | |
| Leu | Cys | Ser | Val | Thr | Gly | Ser | Thr | Pro | Ala | Gln | Lys | Val | Lys | Asp | Val | | |
| | 405 | | | | | | 410 | | | | | 415 | | | | | |
| ctc | ccc | ggc | gtc | cag | ctg | cag | gaa | tac | gac | acc | tac | tcc | tcc | tgt | gtg | 2009 | |
| Leu | Pro | Gly | Val | Gln | Leu | Gln | Glu | Tyr | Asp | Thr | Tyr | Ser | Ser | Cys | Val | | |
| | 420 | | | | | 425 | | | | 430 | | | | | | | |
| gag | gca | ctg | agc | cag | ggc | aac | gtc | gat | gca | atg | acc | acc | gac | gcc | acc | 2057 | |
| Glu | Ala | Leu | Ser | Gln | Gly | Asn | Val | Asp | Ala | Met | Thr | Thr | Asp | Ala | Thr | | |
| 435 | | | | | 440 | | | | 445 | | | | | 450 | | | |
| atc | ctc | ttc | ggc | tac | gcg | cag | cag | cgc | gaa | ggt | gaa | ttc | cgc | gtc | gtg | 2105 | |
| Ile | Leu | Phe | Gly | Tyr | Ala | Gln | Gln | Arg | Glu | Gly | Glu | Phe | Arg | Val | Val | | |
| | | | 455 | | | | | 460 | | | | | 465 | | | | |
| gag | atg | gaa | cag | gac | ggc | gag | ccg | ttc | acc | aat | gag | tac | tac | ggc | atc | 2153 | |
| Glu | Met | Glu | Gln | Asp | Gly | Glu | Pro | Phe | Thr | Asn | Glu | Tyr | Tyr | Gly | Ile | | |
| | | 470 | | | | | 475 | | | | | 480 | | | | | |
| ggt | atc | acc | aag | gat | gac | acc | gaa | gcc | acc | gat | gcg | atc | aac | gca | gcg | 2201 | |
| Gly | Ile | Thr | Lys | Asp | Asp | Thr | Glu | Ala | Thr | Asp | Ala | Ile | Asn | Ala | Ala | | |
| | 485 | | | | | 490 | | | | 495 | | | | | | | |
| ttg | gag | cgt | atg | tac | gcc | gac | ggt | tcc | ttc | cag | cgt | ttc | ctc | acc | gag | 2249 | |
| Leu | Glu | Arg | Met | Tyr | Ala | Asp | Gly | Ser | Phe | Gln | Arg | Phe | Leu | Thr | Glu | | |
| | 500 | | | | | 505 | | | 510 | | | | | | | | |
| aac | ctc | ggc | gag | gat | tcc | cag | gtt | gtc | cag | gag | ggc | acc | ccg | ggt | gac | 2297 | |
| Asn | Leu | Gly | Glu | Asp | Ser | Gln | Val | Val | Gln | Glu | Gly | Thr | Pro | Gly | Asp | | |
| 515 | | | | 520 | | | | 525 | | | | | 530 | | | | |
| ctc | tcc | ttc | ctg | gac | gag | tgacctgacg | gggccgaacg | cccgatgagc | | | | | | | | 2345 | |
| Leu | Ser | Phe | Leu | Asp | Glu | | | | | | | | | | | | |
| | | | 535 | | | | | | | | | | | | | | |
| atgcgtggcc | cccgcacccc | gggggtgccac | gcacatcac | tttcaccact | gatcccctac | | | | | | | | | | | 2405 | |
| cggttccttac | cgaggagaaa | ttcccc | atg agt aca | tta tgg gcg | gat ctg ggt | | | | | | | | | | | 2458 | |
| | | | Met Ser Thr | Leu Trp Ala | Asp Leu Gly | | | | | | | | | | | | |
| | | | 540 | | 545 | | | | | | | | | | | | |
| ccg | tca | ctc | cta | ccc | gca | ttc | tgg | gtg | aca | atc | caa | ctc | acc | gtc | tat | 2506 | |
| Pro | Ser | Leu | Leu | Pro | Ala | Phe | Trp | Val | Thr | Ile | Gln | Leu | Thr | Val | Tyr | | |
| | | | 550 | | | | 555 | | | | | 560 | | | | | |
| tcc | gcc | atc | gga | tcc | atg | atc | ctc | ggt | acc | atc | ctc | acc | gcc | atg | agg | 2554 | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

30/123

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------|------|-----|-----|-----|------------|------------|------|-----|-----|------|--|
| Ser | Ala | Ile | Gly | Ser | Met | Ile | Leu | Gly | Thr | Ile | Leu | Thr | Ala | Met | Arg | | |
| | | | 565 | | | | | | | | | | | | | | |
| gtg | tcc | ccg | gtg | aag | atc | ctg | cgc | agc | ata | tcc | acc | gcc | tac | atc | aac | 2602 | |
| Val | Ser | Pro | Val | Lys | Ile | Leu | Arg | Ser | Ile | Ser | Thr | Ala | Tyr | Ile | Asn | | |
| | | 580 | | | | | 585 | | | | | 590 | | | | | |
| acg | gtc | cgt | aac | acc | cca | ctg | acc | ctg | gtg | atc | ctg | ttc | tgt | tcc | ttc | 2650 | |
| Thr | Val | Arg | Asn | Thr | Pro | Leu | Thr | Leu | Val | Ile | Leu | Phe | Cys | Ser | Phe | | |
| | | 595 | | | | 600 | | | | | 605 | | | | | | |
| ggc | ctg | tat | cag | aat | ctc | ggt | ctc | acc | ctc | gcc | ggt | cgc | gac | agt | tcc | 2698 | |
| Gly | Leu | Tyr | Gln | Asn | Leu | Gly | Leu | Thr | Leu | Ala | Gly | Arg | Asp | Ser | Ser | | |
| 610 | | | | | 615 | | | | | 620 | | | | | 625 | | |
| acc | ttt | ctg | gcc | gat | aac | aac | ttc | cgg | ctc | gcg | gtg | ctc | gga | ttc | atc | 2746 | |
| Thr | Phe | Leu | Ala | Asp | Asn | Asn | Phe | Arg | Leu | Ala | Val | Leu | Gly | Phe | Ile | | |
| | | | | 630 | | | | | 635 | | | | 640 | | | | |
| ctg | tac | acc | tcc | gcc | ttc | gtt | gcg | gaa | tca | ctc | cgg | tca | ggc | atc | aac | 2794 | |
| Leu | Tyr | Thr | Ser | Ala | Phe | Val | Ala | Glu | Ser | Leu | Arg | Ser | Gly | Ile | Asn | | |
| | | | 645 | | | | | 650 | | | | 655 | | | | | |
| acc | gtg | cac | ttc | ggg | cag | gcg | gag | gcc | gcc | cgg | tcg | ctg | gga | ctc | ggt | 2842 | |
| Thr | Val | His | Phe | Gly | Gln | Ala | Glu | Ala | Ala | Arg | Ser | Leu | Gly | Leu | Gly | | |
| | | 660 | | | | | 665 | | | | | 670 | | | | | |
| ttc | agt | gac | atc | ttc | cgg | tcc | atc | atc | ttc | ccc | cag | gcg | gtg | cgt | gcc | 2890 | |
| Phe | Ser | Asp | Ile | Phe | Arg | Ser | Ile | Ile | Phe | Pro | Gln | Ala | Val | Arg | Ala | | |
| | | 675 | | | | 680 | | | | | 685 | | | | | | |
| gcc | atc | atc | ccg | ctg | ggc | aac | acc | ctc | atc | gcc | ctg | acc | aag | aac | acc | 2938 | |
| Ala | Ile | Ile | Pro | Leu | Gly | Asn | Thr | Leu | Ile | Ala | Leu | Thr | Lys | Asn | Thr | | |
| 690 | | | | | 695 | | | | | 700 | | | | | 705 | | |
| acg | atc | gcg | tcc | gtg | atc | ggc | gtc | ggt | gag | gcc | tcg | ctg | ctg | atg | aag | 2986 | |
| Thr | Ile | Ala | Ser | Val | Ile | Gly | Val | Gly | Glu | Ala | Ser | Leu | Leu | Met | Lys | | |
| | | | 710 | | | | | 715 | | | | 720 | | | | | |
| tcc | acg | att | gaa | aat | cat | gcc | aac | atg | ctc | ttc | gtc | gtg | ttc | gcc | atc | 3034 | |
| Ser | Thr | Ile | Glu | Asn | His | Ala | Asn | Met | Leu | Phe | Val | Val | Phe | Ala | Ile | | |
| | | | 725 | | | | | 730 | | | | 735 | | | | | |
| ttc | gcc | gtc | ggc | ttc | atg | atc | ctc | acc | ctc | ccc | atg | ggc | ctg | ggg | ctt | 3082 | |
| Phe | Ala | Val | Gly | Phe | Met | Ile | Leu | Thr | Leu | Pro | Met | Gly | Leu | Gly | Leu | | |
| | | 740 | | | | | 745 | | | | 750 | | | | | | |
| gga | aaa | ctc | gct | gag | aaa | atg | gcg | gtg | aag | aaa | taatgtcctc | ctccgtacgc | 3135 | | | | |
| Gly | Lys | Leu | Ala | Glu | Lys | Met | Ala | Val | Lys | Lys | | | | | | | |
| | | 755 | | | | 760 | | | | | | | | | | | |
| gcaacagtcc | tctacgacgc | ccccggcccc | cggggacgca | ggtccaacac | catcatcacc | 3195 | | | | | | | | | | | |
| atcgccacca | ccctggtggc | agtggccgtc | ctgttctgg | gtg ggc | agt gtt | ctc | 3249 | | | | | | | | | | |
| | | | | Val | Gly | Ser | Val | Leu | | | | | | | | | |
| | | | | | | | 765 | | | | | | | | | | |
| cag | gaa | aac | ggc | cag | ttg | gac | ggc | gac | aaa | tgg | acc | ccg | ttc | ctc | gat | 3297 | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

31/123

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| Gln | Glu | Asn | Gly | Gln | Leu | Asp | Gly | Asp | Lys | Trp | Thr | Pro | Phe | Leu | Asp | |
| 770 | | | | | 775 | | | | | 780 | | | | | 785 | |
| ccc | cag | acc | tgg | acc | acc | tat | ctt | ctg | ccc | ggc | ctg | tgg | gga | acc | ctg | 3345 |
| Pro | Gln | Thr | Trp | Thr | Thr | Tyr | Leu | Leu | Pro | Gly | Leu | Trp | Gly | Thr | Leu | |
| | | | | 790 | | | | | 795 | | | | | 800 | | |
| aag | gca | gcg | gtg | gcc | tcc | atc | ctt | ctc | gcg | ctg | atc | atg | ggc | acc | ctg | 3393 |
| Lys | Ala | Ala | Val | Ala | Ser | Ile | Leu | Leu | Ala | Leu | Ile | Met | Gly | Thr | Leu | |
| | | | 805 | | | | | 810 | | | | | 815 | | | |
| ctc | ggg | ctc | gga | cgc | atc | tcc | gaa | atc | cgg | ctc | ctg | cgc | tgg | ttc | tgc | 3441 |
| Leu | Gly | Leu | Gly | Arg | Ile | Ser | Glu | Ile | Arg | Leu | Leu | Arg | Trp | Phe | Cys | |
| | | 820 | | | | | 825 | | | | | 830 | | | | |
| ggg | atc | atc | atc | gag | acc | ttc | cgt | gcc | atc | ccg | gtg | ctg | atc | ctc | atg | 3489 |
| Gly | Ile | Ile | Ile | Glu | Thr | Phe | Arg | Ala | Ile | Pro | Val | Leu | Ile | Leu | Met | |
| | 835 | | | | | 840 | | | | | 845 | | | | | |
| atc | ttc | gcc | tat | cag | ttg | ttc | gcc | cgt | tac | cag | ctc | gtt | cca | tca | cgc | 3537 |
| Ile | Phe | Ala | Tyr | Gln | Leu | Phe | Ala | Arg | Tyr | Gln | Leu | Val | Pro | Ser | Arg | |
| 850 | | | | | 855 | | | | | 860 | | | | | 865 | |
| cag | ctg | gcc | ttc | gcc | gcg | gtg | gtc | ttc | ggg | ctc | acc | atg | tac | aac | ggc | 3585 |
| Gln | Leu | Ala | Phe | Ala | Ala | Val | Val | Phe | Gly | Leu | Thr | Met | Tyr | Asn | Gly | |
| | | | 870 | | | | | 875 | | | | | 880 | | | |
| tcc | gtc | atc | gcc | gag | atc | ctt | aga | tcg | ggg | atc | gcc | tcc | ctg | ccg | aag | 3633 |
| Ser | Val | Ile | Ala | Glu | Ile | Leu | Arg | Ser | Gly | Ile | Ala | Ser | Leu | Pro | Lys | |
| | | 885 | | | | | | 890 | | | | | 895 | | | |
| gga | cag | cgt | gag | gcg | gcg | atc | gcc | ctg | ggc | atg | tca | acc | cgc | cag | acc | 3681 |
| Gly | Gln | Arg | Glu | Ala | Ala | Ile | Ala | Leu | Gly | Met | Ser | Thr | Arg | Gln | Thr | |
| | 900 | | | | | | 905 | | | | | 910 | | | | |
| acc | tgg | tcg | atc | ctg | ctc | ccc | cag | gcg | gtg | gca | gcg | atg | ctg | ccc | gcc | 3729 |
| Thr | Trp | Ser | Ile | Leu | Leu | Pro | Gln | Ala | Val | Ala | Ala | Met | Leu | Pro | Ala | |
| | 915 | | | | | 920 | | | | | 925 | | | | | |
| ctg | atc | gcg | cag | atg | gtc | atc | gcg | ctg | aag | gac | tcc | gcc | ctc | ggg | tac | 3777 |
| Leu | Ile | Ala | Gln | Met | Val | Ile | Ala | Leu | Lys | Asp | Ser | Ala | Leu | Gly | Tyr | |
| 930 | | | | | 935 | | | | | 940 | | | | | 945 | |
| cag | atc | ggg | tat | atc | gag | gtg | gta | cgc | tcc | ggg | atc | cag | tcc | gca | tcc | 3825 |
| Gln | Ile | Gly | Tyr | Ile | Glu | Val | Val | Arg | Ser | Gly | Ile | Gln | Ser | Ala | Ser | |
| | | | 950 | | | | | 955 | | | | | 960 | | | |
| gtc | aac | cgg | aac | tac | ctg | gct | gcc | ctc | gcg | gtg | gtc | gcg | gtc | atc | atg | 3873 |
| Val | Asn | Arg | Asn | Tyr | Leu | Ala | Ala | Leu | Ala | Val | Val | Ala | Val | Ile | Met | |
| | | | 965 | | | | | 970 | | | | | 975 | | | |
| atc | ctg | atc | aac | ttc | gca | ctg | acc | gca | | | | | | | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

32/123

995 1000 1005
 gag gaa ccc gat cag ggc ctg gat acc aag gac aat gtg aac gtg gat 4017
 Glu Glu Pro Asp Gln Gly Leu Asp Thr Lys Asp Asn Val Asn Val Asp
 1010 1015 1020 1025
 tgg cac gat ccc gat tac aag gaa gtc aaa cac ccg gga ccg tca ttc 4065
 Trp His Asp Pro Asp Tyr Lys Glu Val Lys His Pro Gly Pro Ser Phe
 1030 1035 1040
 tgacagggtcc ctggatcccc gctgcgggtca ggaggcgggt gcaacaatga agtccggctg 4125
 cccagatgtc tggggcagcc ggactttgtg gcagatcaat gctgactgag gtcctcgatg 4185
 cgctcatcga gagcctcccg ggccagggtcc atcgacatac ccgcggggaa tccacgacgg 4245
 gcaagtgtc 4254

<210> 17

<211> 242

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 17

Met Ile Lys Met Thr Gly Val Gln Lys Phe Phe Asp Asp Phe Gln Ala
 1 5 10 15
 Leu Thr Asp Ile Asn Leu Glu Val Pro Ala Gly Gln Val Val Val Val
 20 25 30
 Leu Gly Pro Ser Gly Ser Gly Lys Ser Thr Leu Cys Arg Thr Ile Asn
 35 40 45
 Arg Leu Glu Thr Ile Glu Glu Gly Thr Ile Glu Ile Asp Gly Lys Leu
 50 55 60
 Leu Pro Glu Glu Gly Lys Asp Leu Ala Lys Ile Arg Ala Asp Val Gly
 65 70 75 80
 Met Val Phe Gln Ser Phe Asn Leu Phe Pro His Leu Thr Ile Lys Asp
 85 90 95
 Asn Val Thr Leu Gly Pro Met Lys Val Arg Lys Met Lys Lys Ser Glu
 100 105 110
 Ala Asn Glu Val Ala Met Lys Leu Leu Glu Arg Val Gly Ile Ala Asn
 115 120 125
 Gln Ala Glu Lys Tyr Pro Ala Gln Leu Ser Gly Gly Gln Gln Gln Arg
 130 135 140
 Val Ala Ile Ala Arg Ala Leu Ala Met Asn Pro Lys Ile Met Leu Phe
 145 150 155 160
 Asp Glu Pro Thr Ser Ala Leu Asp Pro Glu Met Val Asn Glu Val Leu
 165 170 175
 Asp Val Met Ala Ser Leu Ala Lys Glu Gly Met Thr Met Val Cys Val
 180 185 190
 Thr His Glu Met Gly Phe Ala Arg Arg Ala Ala Asp Arg Val Leu Phe

THIS PAGE BLANK (USPTO)

33/123

| | | |
|---|-----|-----|
| 195 | 200 | 205 |
| Met Ser Asp Gly Ala Ile Val Glu Asp Ser Asp Pro Glu Thr Phe Phe | | |
| 210 | 215 | 220 |
| Thr Asn Pro Gln Thr Asp Arg Ala Lys Asp Phe Leu Gly Lys Ile Leu | | |
| 225 | 230 | 235 |
| Ala His | | 240 |

<210> 18

<211> 294

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 18

| | | |
|---|-----|-----|
| Met Ser His Lys Arg Met Phe Thr Arg Leu Ala Ala Ala Thr Ser Ala | | |
| 1 | 5 | 10 |
| Ala Val Leu Ala Gly Ile Thr Leu Thr Ala Cys Gly Asp Ser Glu Gly | | |
| 20 | 25 | 30 |
| Gly Asp Gly Leu Leu Ala Ala Ile Glu Asn Gly Asn Val Thr Ile Gly | | |
| 35 | 40 | 45 |
| Thr Lys Tyr Asp Gln Pro Gly Leu Gly Leu Arg Asn Pro Asp Asn Ser | | |
| 50 | 55 | 60 |
| Met Ser Gly Leu Asp Val Asp Val Ala Gln Tyr Val Val Asn Ser Ile | | |
| 65 | 70 | 75 |
| Ala Asp Asp Asn Gly Trp Asp His Pro Thr Val Glu Trp Arg Glu Thr | | |
| 85 | 90 | 95 |
| Pro Ser Ala Gln Arg Glu Thr Leu Ile Gln Asn Gly Glu Val Asp Met | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Ile Ala Ala Thr Tyr Ser Ile Asn Pro Gly Arg Ser Glu Ser Val Asn | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Phe Gly Gly Pro Tyr Leu Leu Thr His Gln Ala Leu Leu Val Arg Glu | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Asp Asp Asp Arg Ile Gln Thr Leu Glu Asp Leu Asp Asp Gly Leu Ile | | |
| 145 | 150 | 155 |
| Leu Cys Ser Val Thr Gly Ser Thr Pro Ala Gln Lys Val Lys Asp Val | | |
| 165 | 170 | 175 |
| Leu Pro Gly Val Gln Leu Gln Glu Tyr Asp Thr Tyr Ser Ser Cys Val | | |
| 180 | 185 | 190 |
| Glu Ala Leu Ser Gln Gly Asn Val Asp Ala Met Thr Thr Asp Ala Thr | | |
| 195 | 200 | 205 |
| Ile Leu Phe Gly Tyr Ala Gln Gln Arg Glu Gly Glu Phe Arg Val Val | | |
| 210 | 215 | 220 |
| Glu Met Glu Gln Asp Gly Glu Pro Phe Thr Asn Glu Tyr Tyr Gly Ile | | |
| 225 | 230 | 235 |
| | | 240 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

34/123

Gly Ile Thr Lys Asp Asp Thr Glu Ala Thr Asp Ala Ile Asn Ala Ala
 245 250 255
 Leu Glu Arg Met Tyr Ala Asp Gly Ser Phe Gln Arg Phe Leu Thr Glu
 260 265 270
 Asn Leu Gly Glu Asp Ser Gln Val Val Gln Glu Gly Thr Pro Gly Asp
 275 280 285
 Leu Ser Phe Leu Asp Glu
 290

<210> 19

<211> 228

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 19

Met Ser Thr Leu Trp Ala Asp Leu Gly Pro Ser Leu Leu Pro Ala Phe
 1 5 10 15
 Trp Val Thr Ile Gln Leu Thr Val Tyr Ser Ala Ile Gly Ser Met Ile
 20 25 30
 Leu Gly Thr Ile Leu Thr Ala Met Arg Val Ser Pro Val Lys Ile Leu
 35 40 45
 Arg Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Ile Asn Thr Val Arg Asn Thr Pro Leu
 50 55 60
 Thr Leu Val Ile Leu Phe Cys Ser Phe Gly Leu Tyr Gln Asn Leu Gly
 65 70 75 80
 Leu Thr Leu Ala Gly Arg Asp Ser Ser Thr Phe Leu Ala Asp Asn Asn
 85 90 95
 Phe Arg Leu Ala Val Leu Gly Phe Ile Leu Tyr Thr Ser Ala Phe Val
 100 105 110
 Ala Glu Ser Leu Arg Ser Gly Ile Asn Thr Val His Phe Gly Gln Ala
 115 120 125
 Glu Ala Ala Arg Ser Leu Gly Leu Gly Phe Ser Asp Ile Phe Arg Ser
 130 135 140
 Ile Ile Phe Pro Gln Ala Val Arg Ala Ala Ile Ile Pro Leu Gly Asn
 145 150 155 160
 Thr Leu Ile Ala Leu Thr Lys Asn Thr Thr Ile Ala Ser Val Ile Gly
 165 170 175
 Val Gly Glu Ala Ser Leu Leu Met Lys Ser Thr Ile Glu Asn His Ala
 180 185 190
 Asn Met Leu Phe Val Val Phe Ala Ile Phe Ala Val Gly Phe Met Ile
 195 200 205
 Leu Thr Leu Pro Met Gly Leu Gly Leu Gly Lys Leu Ala Glu Lys Met
 210 215 220

THIS PAGE BLANK (USPTO)

35/123

Ala Val Lys Lys

225

<210> 20

<211> 277

<212> PRT

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<400> 20

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Gly | Ser | Val | Leu | Gln | Glu | Asn | Gly | Gln | Leu | Asp | Gly | Asp | Lys | Trp |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | |
| Thr | Pro | Phe | Leu | Asp | Pro | Gln | Thr | Trp | Thr | Thr | Tyr | Leu | Leu | Pro | Gly |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Leu | Trp | Gly | Thr | Leu | Lys | Ala | Ala | Val | Ala | Ser | Ile | Leu | Leu | Ala | Leu |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | | 45 | | |
| Ile | Met | Gly | Thr | Leu | Leu | Gly | Leu | Gly | Arg | Ile | Ser | Glu | Ile | Arg | Leu |
| | 50 | | | | | 55 | | | | 60 | | | | | |
| Leu | Arg | Trp | Phe | Cys | Gly | Ile | Ile | Ile | Glu | Thr | Phe | Arg | Ala | Ile | Pro |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |
| Val | Leu | Ile | Leu | Met | Ile | Phe | Ala | Tyr | Gln | Leu | Phe | Ala | Arg | Tyr | Gln |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Leu | Val | Pro | Ser | Arg | Gln | Leu | Ala | Phe | Ala | Ala | Val | Val | Phe | Gly | Leu |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Thr | Met | Tyr | Asn | Gly | Ser | Val | Ile | Ala | Glu | Ile | Leu | Arg | Ser | Gly | Ile |
| | 115 | | | | | 120 | | | | | | 125 | | | |
| Ala | Ser | Leu | Pro | Lys | Gly | Gln | Arg | Glu | Ala | Ala | Ile | Ala | Leu | Gly | Met |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Ser | Thr | Arg | Gln | Thr | Thr | Trp | Ser | Ile | Leu | Leu | Pro | Gln | Ala | Val | Ala |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |
| Ala | Met | Leu | Pro | Ala | Leu | Ile | Ala | Gln | Met | Val | Ile | Ala | Leu | Lys | Asp |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| Ser | Ala | Leu | Gly | Tyr | Gln | Ile | Gly | Tyr | Ile | Glu | Val | Val | Arg | Ser | Gly |
| | | 180 | | | | | 185 | | | | | | 190 | | |
| Ile | Gln | Ser | Ala | Ser | Val | Asn | Arg | Asn | Tyr | Leu | Ala | Ala | Leu | Ala | Val |
| | 195 | | | | | 200 | | | | | | 205 | | | |
| Val | Ala | Val | Ile | Met | Ile | Leu | Ile | Asn | Phe | Ala | Leu | Thr | Ala | Leu | Ala |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Glu | Arg | Ile | Gln | Arg | Gln | Leu | Arg | Ala | Gly | Arg | Ala | Arg | Arg | Asn | Ile |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 |
| Val | Ala | Lys | Val | Pro | Glu | Glu | Pro | Asp | Gln | Gly | Leu | Asp | Thr | Lys | Asp |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | |
| Asn | Val | Asn | Val | Asp | Trp | His | Asp | Pro | Asp | Tyr | Lys | Glu | Val | Lys | His |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | | 270 | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Pro Gly Pro Ser Phe
275

<210> 21

<211> 3598

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (454)..(3222)

<400> 21

```

agcacggcca aacatgagag aaacttcaca ttttgaattt cccctttcct gcatatggaa 60
aacgcgcggt gacacccctg ccatttgggc agctccccc acctcaccat gtccacattt 120
tccataatgt ggctgtaac acccttgggc tcaaggtctt cagcctccac cgggaccctc 180
atcagcaggt gaaacagacc ctctgcaat gctttgttaa aaagaaccgc ctttgtgcg 240
tatecttggt tcaattgtgc gcgcactgcc accagcttct ctcaggattg aacacggtcg 300
ggaaatectc cccggatacc ctgcacgcc cactccccc accgacaccg gcggggaggg 360
ccgggcacgt ttccagctgc gggatgatga agcgtcgcc ggtcccccg tgcataaac 420
gaaatgaaaa acattccaac aggaggtgtg gaa atg gcc gat caa gca aaa ctt 474

```

Met Ala Asp Gln Ala Lys Leu

1

5

```

ggt ggc aaa ccc aca gat gac acc aac ttc gcg atg atc cgt gat ggc 522
Gly Gly Lys Pro Thr Asp Asp Thr Asn Phe Ala Met Ile Arg Asp Gly
      10                15                20
ggt gca tct tat ttg aac gac tcc gac ccg gag gag acc aag gag tgg 570
Val Ala Ser Tyr Leu Asn Asp Ser Asp Pro Glu Glu Thr Lys Glu Trp
      25                30                35
atg gac tcc cta gac ggt cta ctg cag gat tcc tct ccg gag cgc gcc 618
Met Asp Ser Leu Asp Gly Leu Leu Gln Asp Ser Ser Pro Glu Arg Ala
      40                45                50                55
cgt tac ctg atg ctg cgc ctg ctg gag cgg gca tcc gcc aag cgt gtc 666
Arg Tyr Leu Met Leu Arg Leu Leu Glu Arg Ala Ser Ala Lys Arg Val
      60                65                70
cca ctg ccc ccg atg acg tcc acc gat tac gtc aac acc atc ccc aca 714
Pro Leu Pro Pro Met Thr Ser Thr Asp Tyr Val Asn Thr Ile Pro Thr
      75                80                85
tcc atg gag ccc gat ttc ccg ggt gat gag gag atg gag aag cgc tac 762
Ser Met Glu Pro Asp Phe Pro Gly Asp Glu Glu Met Glu Lys Arg Tyr
      90                95                100
cgc cgc tgg atg cgc tgg aac gcc gcc atc atg gtg cac cgt gcc cag 810
Arg Arg Trp Met Arg Trp Asn Ala Ala Ile Met Val His Arg Ala Gln
      105                110                115
cgc ccg gga atc ggt gtg ggt ggg cac atc tcc acc tac gcc ggc gcc 858

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

37/123

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|--|
| Arg | Pro | Gly | Ile | Gly | Val | Gly | Gly | His | Ile | Ser | Thr | Tyr | Ala | Gly | Ala | | |
| 120 | | | | | 125 | | | | | 130 | | | | | 135 | | |
| gcc | cca | ctc | tac | gag | gtc | ggt | ttc | aac | cac | ttc | ttc | cgc | ggc | aag | gac | 906 | |
| Ala | Pro | Leu | Tyr | Glu | Val | Gly | Phe | Asn | His | Phe | Phe | Arg | Gly | Lys | Asp | | |
| | | | 140 | | | | | | 145 | | | | | 150 | | | |
| cac | ccg | ggt | ggc | ggt | gac | cag | gtc | ttc | ttc | cag | ggt | cac | gcc | tcc | ccg | 954 | |
| His | Pro | Gly | Gly | Gly | Asp | Gln | Val | Phe | Phe | Gln | Gly | His | Ala | Ser | Pro | | |
| | | 155 | | | | | | 160 | | | | | 165 | | | | |
| ggc | atg | tac | gcc | cgc | gcc | ttc | ctc | gag | ggc | cgt | ctc | acc | gag | agc | gat | 1002 | |
| Gly | Met | Tyr | Ala | Arg | Ala | Phe | Leu | Glu | Gly | Arg | Leu | Thr | Glu | Ser | Asp | | |
| | 170 | | | | | | 175 | | | | | 180 | | | | | |
| ctg | gac | agc | ttc | cgc | cag | gag | gtc | tcc | tac | gaa | ggt | ggt | ggc | atc | ccg | 1050 | |
| Leu | Asp | Ser | Phe | Arg | Gln | Glu | Val | Ser | Tyr | Glu | Gly | Gly | Gly | Ile | Pro | | |
| | 185 | | | | | 190 | | | | 195 | | | | | | | |
| tcc | tac | ccg | cac | ccg | cac | ggc | atg | ccg | gac | ttc | tgg | gag | ttc | ccg | acc | 1098 | |
| Ser | Tyr | Pro | His | Pro | His | Gly | Met | Pro | Asp | Phe | Trp | Glu | Phe | Pro | Thr | | |
| 200 | | | | | 205 | | | | 210 | | | | | 215 | | | |
| gtg | tcc | atg | ggc | ctc | ggg | ccc | atg | gat | gcc | atc | tac | cag | gcg | cgc | ttc | 1146 | |
| Val | Ser | Met | Gly | Leu | Gly | Pro | Met | Asp | Ala | Ile | Tyr | Gln | Ala | Arg | Phe | | |
| | | | 220 | | | | | 225 | | | | 230 | | | | | |
| aac | cgc | tac | ctg | cac | aac | cgt | ggc | atc | aag | gac | acc | tcg | gag | cag | cac | 1194 | |
| Asn | Arg | Tyr | Leu | His | Asn | Arg | Gly | Ile | Lys | Asp | Thr | Ser | Glu | Gln | His | | |
| | | 235 | | | | | 240 | | | | | 245 | | | | | |
| gtc | tgg | gca | ttc | ctc | ggt | gac | ggc | gag | atg | gat | gag | ccg | gag | tcc | cgt | 1242 | |
| Val | Trp | Ala | Phe | Leu | Gly | Asp | Gly | Glu | Met | Asp | Glu | Pro | Glu | Ser | Arg | | |
| | 250 | | | | | 255 | | | | | 260 | | | | | | |
| ggt | ctc | atc | cac | cag | gct | gcg | ctg | aac | aac | ctg | gac | aac | ctc | acc | ttc | 1290 | |
| Gly | Leu | Ile | His | Gln | Ala | Ala | Leu | Asn | Asn | Leu | Asp | Asn | Leu | Thr | Phe | | |
| | 265 | | | | 270 | | | | | 275 | | | | | | | |
| gtg | atc | aac | tgc | aac | ctg | cag | cgt | ctt | gat | ggc | ccg | gtc | cgc | ggt | aac | 1338 | |
| Val | Ile | Asn | Cys | Asn | Leu | Gln | Arg | Leu | Asp | Gly | Pro | Val | Arg | Gly | Asn | | |
| 280 | | | | 285 | | | | 290 | | | | 295 | | | | | |
| acc | aag | atc | atc | cag | gaa | ctc | gag | tcc | ttc | ttc | cgt | ggt | gcc | ggc | tgg | 1386 | |
| Thr | Lys | Ile | Ile | Gln | Glu | Leu | Glu | Ser | Phe | Phe | Arg | Gly | Ala | Gly | Trp | | |
| | | | 300 | | | | | 305 | | | | 310 | | | | | |
| tcc | gtc | atc | aag | gtc | atc | tgg | ggc | cgt | gag | tgg | gat | gaa | ctg | ctg | gag | 1434 | |
| Ser | Val | Ile | Lys | Val | Ile | Trp | Gly | Arg | Glu | Trp | Asp | Glu | Leu | Leu | Glu | | |
| | | 315 | | | | | 320 | | | | | 325 | | | | | |
| aag | gac | cag | gac | ggt | gct | ctt | gtc | gag | gtc | atg | aac | aac | acc | tcc | gac | 1482 | |
| Lys | Asp | Gln | Asp | Gly | Ala | Leu | Val | Glu | Val | Met | Asn | Asn | Thr | Ser | Asp | | |
| | 330 | | | | | 335 | | | | | 340 | | | | | | |
| ggt | gac | tac | cag | acc | ttc | aag | gcc | aat | gac | ggt | gcc | tac | gtc | cgt | gag | 1530 | |
| Gly | Asp | Tyr | Gln | Thr | Phe | Lys | Ala | Asn | Asp | Gly | Ala | Tyr | Val | Arg | Glu | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

38/123

| | | | |
|---|-----|-----|------|
| 345 | 350 | 355 | |
| cac ttc ttc ggc cgt gac ccc cgc acc ctc aag ctc gtc gag gac atg | | | 1578 |
| His Phe Phe Gly Arg Asp Pro Arg Thr Leu Lys Leu Val Glu Asp Met | | | |
| 360 | 365 | 370 | 375 |
| acc gac gag gag atc tgg aag ctg ccc cgt ggt ggc cat gac tac cgt | | | 1626 |
| Thr Asp Glu Glu Ile Trp Lys Leu Pro Arg Gly Gly His Asp Tyr Arg | | | |
| 380 | 385 | 390 | |
| aag gtc tac gcc gcc tac aag cgt gcg ctg gag acc aag gac cgc ccg | | | 1674 |
| Lys Val Tyr Ala Ala Tyr Lys Arg Ala Leu Glu Thr Lys Asp Arg Pro | | | |
| 395 | 400 | 405 | |
| acc gtc att ctc gcc cat acc atc aag ggc tac ggc ctg ggc cac aac | | | 1722 |
| Thr Val Ile Leu Ala His Thr Ile Lys Gly Tyr Gly Leu Gly His Asn | | | |
| 410 | 415 | 420 | |
| ttc gag ggc cgc aac gcg acc cac cag atg aag aag ctg acc ctg gat | | | 1770 |
| Phe Glu Gly Arg Asn Ala Thr His Gln Met Lys Lys Leu Thr Leu Asp | | | |
| 425 | 430 | 435 | |
| gac ctg aag ctg ttc cgt gac aag cag ggt ctg ccc atc acc gat gag | | | 1818 |
| Asp Leu Lys Leu Phe Arg Asp Lys Gln Gly Leu Pro Ile Thr Asp Glu | | | |
| 440 | 445 | 450 | 455 |
| gag ctg gag aag gat ccc tac ctg cct ccg tac tac cac ccg ggt gag | | | 1866 |
| Glu Leu Glu Lys Asp Pro Tyr Leu Pro Pro Tyr Tyr His Pro Gly Glu | | | |
| 460 | 465 | 470 | |
| gac gca ccg gag atc aag tac atg aag gag cgt cgc cag gcg ctc ggt | | | 1914 |
| Asp Ala Pro Glu Ile Lys Tyr Met Lys Glu Arg Arg Gln Ala Leu Gly | | | |
| 475 | 480 | 485 | |
| ggt ttc ctg ccg gag cgc cgt gag aag tac gag cca ctg cag gtt ccc | | | 1962 |
| Gly Phe Leu Pro Glu Arg Arg Glu Lys Tyr Glu Pro Leu Gln Val Pro | | | |
| 490 | 495 | 500 | |
| ccg ctg gac aag ctg cgg tcc gtg cgc aag ggt tcc ggc aag cag cag | | | 2010 |
| Pro Leu Asp Lys Leu Arg Ser Val Arg Lys Gly Ser Gly Lys Gln Gln | | | |
| 505 | 510 | 515 | |
| gtg gcc acc acc atg gcc acg gtg cgt acc ttc aag gaa ctc atg cgg | | | 2058 |
| Val Ala Thr Thr Met Ala Thr Val Arg Thr Phe Lys Glu Leu Met Arg | | | |
| 520 | 525 | 530 | 535 |
| gac aag aac ctg gcc gac cgc ttg gtc ccg atc atc ccg gat gag gcc | | | 2106 |
| Asp Lys Asn Leu Ala Asp Arg Leu Val Pro Ile Ile Pro Asp Glu Ala | | | |
| 540 | 545 | 550 | |
| cgc acc ttc ggc ctg gac tcc tgg ttc ccg acc ctg aaa atc tac aac | | | 2154 |
| Arg Thr Phe Gly Leu Asp Ser Trp Phe Pro Thr Leu Lys Ile Tyr Asn | | | |
| 555 | 560 | 565 | |
| ccg cac ggt cag aac tac gtg ccg gtc gac cat gac ctc atg ctg tcc | | | 2202 |
| Pro His Gly Gln Asn Tyr Val Pro Val Asp His Asp Leu Met Leu Ser | | | |
| 570 | 575 | 580 | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

39/123

| | |
|---|------|
| tac cgt gag gcc aag gac ggc cag atc ctg cat gag ggc atc aac gag | 2250 |
| Tyr Arg Glu Ala Lys Asp Gly Gln Ile Leu His Glu Gly Ile Asn Glu | |
| 585 590 595 | |
| gcc ggt tcc gtg gca tcg ttt atc gcc gcc gga acc tcc tac gcc acc | 2298 |
| Ala Gly Ser Val Ala Ser Phe Ile Ala Ala Gly Thr Ser Tyr Ala Thr | |
| 600 605 610 615 | |
| cat ggc gag gcc atg atc ccg ctg tac atc ttc tac tcg atg ttc ggc | 2346 |
| His Gly Glu Ala Met Ile Pro Leu Tyr Ile Phe Tyr Ser Met Phe Gly | |
| 620 625 630 | |
| ttc cag cgc acc ggt gac ggc atc tgg gcc gca gcc gac cag atg acg | 2394 |
| Phe Gln Arg Thr Gly Asp Gly Ile Trp Ala Ala Ala Asp Gln Met Thr | |
| 635 640 645 | |
| cgt ggt ttc ctc ctg ggc gcc acc gcc ggt cgc acc acc ctg acc ggt | 2442 |
| Arg Gly Phe Leu Leu Gly Ala Thr Ala Gly Arg Thr Thr Leu Thr Gly | |
| 650 655 660 | |
| gag ggc ctc cag cac atg gat ggc cac tcc ccg atc ctg gcc tcc acc | 2490 |
| Glu Gly Leu Gln His Met Asp Gly His Ser Pro Ile Leu Ala Ser Thr | |
| 665 670 675 | |
| aac ccc ggt gtg gag acc tat gac ccg gcg ttc tcc tac gag atc gcg | 2538 |
| Asn Pro Gly Val Glu Thr Tyr Asp Pro Ala Phe Ser Tyr Glu Ile Ala | |
| 680 685 690 695 | |
| cac ctg gtc cac cgc ggc atc gac cgc atg tac gga ccg ggc aag ggt | 2586 |
| His Leu Val His Arg Gly Ile Asp Arg Met Tyr Gly Pro Gly Lys Gly | |
| 700 705 710 | |
| gag aat gtc atc tac tac ctc acc atc tac aac gag cca acc ccg cag | 2634 |
| Glu Asn Val Ile Tyr Tyr Leu Thr Ile Tyr Asn Glu Pro Thr Pro Gln | |
| 715 720 725 | |
| ccg gct gag cct gag gat ctg gac gtc gag ggc ctg cac aag ggc atc | 2682 |
| Pro Ala Glu Pro Glu Asp Leu Asp Val Glu Gly Leu His Lys Gly Ile | |
| 730 735 740 | |
| tac ctc tac gac aag gcc gcc gag ggt gag ggc cat gag gcc tcg atc | 2730 |
| Tyr Leu Tyr Asp Lys Ala Ala Glu Gly Glu Gly His Glu Ala Ser Ile | |
| 745 750 755 | |
| ctg gcc tcc ggc atc ggc atg cag tgg gca ctg cgc gcc cgt gac atc | 2778 |
| Leu Ala Ser Gly Ile Gly Met Gln Trp Ala Leu Arg Ala Arg Asp Ile | |
| 760 765 770 775 | |
| ctc gcc gag gat tac ggc atc cgt gcc aac atc ttc tcc gcc acc tcg | 2826 |
| Leu Ala Glu Asp Tyr Gly Ile Arg Ala Asn Ile Phe Ser Ala Thr Ser | |
| 780 785 790 | |
| tgg gtg gag ctg gcc cgc gac ggt gcc cgc cgt aac ctg gag gcg ctg | 2874 |
| Trp Val Glu Leu Ala Arg Asp Gly Ala Arg Arg Asn Leu Glu Ala Leu | |
| 795 800 805 | |
| cgc aac ccg ggt gcg gat gtc ggt gag gca ttc gtg acc acc cag ctg | 2922 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

40/123

```

Arg Asn Pro Gly Ala Asp Val Gly Glu Ala Phe Val Thr Thr Gln Leu
      810                      815                      820
aag aag ggt tcc ggc ccc tac gtc gcg gtg tcc gac ttc gcg acc gac 2970
Lys Lys Gly Ser Gly Pro Tyr Val Ala Val Ser Asp Phe Ala Thr Asp
      825                      830                      835
ctg ccg aac cag atc cgc gag tgg gtt ccc ggt gac tac atc gtc ctc 3018
Leu Pro Asn Gln Ile Arg Glu Trp Val Pro Gly Asp Tyr Ile Val Leu
      840                      845                      850                      855
ggt gcc gac ggc ttc ggt ttc tcc gat acc cgt ccg gca gcc cgt cgt 3066
Gly Ala Asp Gly Phe Gly Phe Ser Asp Thr Arg Pro Ala Ala Arg Arg
      860                      865                      870
tac ttc aac atc gac gcc gag tcc atc gtc gtg gcg gtc ctg cgc ggc 3114
Tyr Phe Asn Ile Asp Ala Glu Ser Ile Val Val Ala Val Leu Arg Gly
      875                      880                      885
ctg gtc cgc gag ggt gtc atc gat gcc tcc gtg gcg gcg cac gcg gct 3162
Leu Val Arg Glu Gly Val Ile Asp Ala Ser Val Ala Ala His Ala Ala
      890                      895                      900
gag aag tac aag ctg tcc gac ccg acg gca cca cag gtc gat ccg gac 3210
Glu Lys Tyr Lys Leu Ser Asp Pro Thr Ala Pro Gln Val Asp Pro Asp
      905                      910                      915
gca ccg atc gag tagacctgct tgtcgacgaa aaacaccccc gccccctcac 3262
Ala Pro Ile Glu
920
atgatgaggg gggcgggggt gtgctcgttt acggcgggta caggggggta tcagcccagc 3322
atgccttat cggagagcgt cgcgcccttg atcttggcga attcctgcag cagatcccgc 3382
acggtgagct tctgcttcac ctctgcgctg gcctcataga cgatccgtcc ctcgtgcac 3442
atgatgaggc ggttaccag gcggatagcc tgttccatgt tgtgggtgac catgagggtg 3502
gtcagtttgc cgtcctcgac gatcttctcg gtcagggtgg tgaccagttc ggtcgtctgg 3562
gggtccaggg cggcgggtgtg ttcgtcgaga agcatg 3598

```

<210> 22

<211> 923

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 22

```

Met Ala Asp Gln Ala Lys Leu Gly Gly Lys Pro Thr Asp Asp Thr Asn
  1                      5                      10                      15
Phe Ala Met Ile Arg Asp Gly Val Ala Ser Tyr Leu Asn Asp Ser Asp
      20                      25                      30
Pro Glu Glu Thr Lys Glu Trp Met Asp Ser Leu Asp Gly Leu Leu Gln
      35                      40                      45
Asp Ser Ser Pro Glu Arg Ala Arg Tyr Leu Met Leu Arg Leu Leu Glu

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

41/123

| | | | | | |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|
| 50 | | 55 | | 60 | |
| Arg Ala Ser Ala Lys Arg Val Pro Leu Pro Pro Met Thr Ser Thr Asp | | | | | |
| 65 | | 70 | | 75 | 80 |
| Tyr Val Asn Thr Ile Pro Thr Ser Met Glu Pro Asp Phe Pro Gly Asp | | | | | |
| | 85 | | 90 | | 95 |
| Glu Glu Met Glu Lys Arg Tyr Arg Arg Trp Met Arg Trp Asn Ala Ala | | | | | |
| | 100 | | 105 | | 110 |
| Ile Met Val His Arg Ala Gln Arg Pro Gly Ile Gly Val Gly Gly His | | | | | |
| | 115 | | 120 | | 125 |
| Ile Ser Thr Tyr Ala Gly Ala Ala Pro Leu Tyr Glu Val Gly Phe Asn | | | | | |
| | 130 | | 135 | | 140 |
| His Phe Phe Arg Gly Lys Asp His Pro Gly Gly Gly Asp Gln Val Phe | | | | | |
| 145 | | 150 | | 155 | 160 |
| Phe Gln Gly His Ala Ser Pro Gly Met Tyr Ala Arg Ala Phe Leu Glu | | | | | |
| | 165 | | 170 | | 175 |
| Gly Arg Leu Thr Glu Ser Asp Leu Asp Ser Phe Arg Gln Glu Val Ser | | | | | |
| | 180 | | 185 | | 190 |
| Tyr Glu Gly Gly Gly Ile Pro Ser Tyr Pro His Pro His Gly Met Pro | | | | | |
| | 195 | | 200 | | 205 |
| Asp Phe Trp Glu Phe Pro Thr Val Ser Met Gly Leu Gly Pro Met Asp | | | | | |
| | 210 | | 215 | | 220 |
| Ala Ile Tyr Gln Ala Arg Phe Asn Arg Tyr Leu His Asn Arg Gly Ile | | | | | |
| 225 | | 230 | | 235 | 240 |
| Lys Asp Thr Ser Glu Gln His Val Trp Ala Phe Leu Gly Asp Gly Glu | | | | | |
| | 245 | | 250 | | 255 |
| Met Asp Glu Pro Glu Ser Arg Gly Leu Ile His Gln Ala Ala Leu Asn | | | | | |
| | 260 | | 265 | | 270 |
| Asn Leu Asp Asn Leu Thr Phe Val Ile Asn Cys Asn Leu Gln Arg Leu | | | | | |
| | 275 | | 280 | | 285 |
| Asp Gly Pro Val Arg Gly Asn Thr Lys Ile Ile Gln Glu Leu Glu Ser | | | | | |
| | 290 | | 295 | | 300 |
| Phe Phe Arg Gly Ala Gly Trp Ser Val Ile Lys Val Ile Trp Gly Arg | | | | | |
| 305 | | 310 | | 315 | 320 |
| Glu Trp Asp Glu Leu Leu Glu Lys Asp Gln Asp Gly Ala Leu Val Glu | | | | | |
| | 325 | | 330 | | 335 |
| Val Met Asn Asn Thr Ser Asp Gly Asp Tyr Gln Thr Phe Lys Ala Asn | | | | | |
| | 340 | | 345 | | 350 |
| Asp Gly Ala Tyr Val Arg Glu His Phe Phe Gly Arg Asp Pro Arg Thr | | | | | |
| | 355 | | 360 | | 365 |
| Leu Lys Leu Val Glu Asp Met Thr Asp Glu Glu Ile Trp Lys Leu Pro | | | | | |
| | 370 | | 375 | | 380 |
| Arg Gly Gly His Asp Tyr Arg Lys Val Tyr Ala Ala Tyr Lys Arg Ala | | | | | |
| 385 | | 390 | | 395 | 400 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| Leu | Glu | Thr | Lys | Asp | Arg | Pro | Thr | Val | Ile | Leu | Ala | His | Thr | Ile | Lys | |
| | | | | 405 | | | | | 410 | | | | | 415 | | |
| Gly | Tyr | Gly | Leu | Gly | His | Asn | Phe | Glu | Gly | Arg | Asn | Ala | Thr | His | Gln | |
| | | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | |
| Met | Lys | Lys | Leu | Thr | Leu | Asp | Asp | Leu | Lys | Leu | Phe | Arg | Asp | Lys | Gln | |
| | | | | 435 | | | | | 440 | | | | | 445 | | |
| Gly | Leu | Pro | Ile | Thr | Asp | Glu | Glu | Leu | Glu | Lys | Asp | Pro | Tyr | Leu | Pro | |
| | | | | 450 | | | | | 455 | | | | | 460 | | |
| Pro | Tyr | Tyr | His | Pro | Gly | Glu | Asp | Ala | Pro | Glu | Ile | Lys | Tyr | Met | Lys | |
| | | | | 465 | | | | | 470 | | | | | 475 | | |
| Glu | Arg | Arg | Gln | Ala | Leu | Gly | Gly | Phe | Leu | Pro | Glu | Arg | Arg | Glu | Lys | |
| | | | | 485 | | | | | 490 | | | | | 495 | | |
| Tyr | Glu | Pro | Leu | Gln | Val | Pro | Pro | Leu | Asp | Lys | Leu | Arg | Ser | Val | Arg | |
| | | | | 500 | | | | | 505 | | | | | 510 | | |
| Lys | Gly | Ser | Gly | Lys | Gln | Gln | Val | Ala | Thr | Thr | Met | Ala | Thr | Val | Arg | |
| | | | | 515 | | | | | 520 | | | | | 525 | | |
| Thr | Phe | Lys | Glu | Leu | Met | Arg | Asp | Lys | Asn | Leu | Ala | Asp | Arg | Leu | Val | |
| | | | | 530 | | | | | 535 | | | | | 540 | | |
| Pro | Ile | Ile | Pro | Asp | Glu | Ala | Arg | Thr | Phe | Gly | Leu | Asp | Ser | Trp | Phe | |
| | | | | 545 | | | | | 550 | | | | | 555 | | |
| Pro | Thr | Leu | Lys | Ile | Tyr | Asn | Pro | His | Gly | Gln | Asn | Tyr | Val | Pro | Val | |
| | | | | 565 | | | | | 570 | | | | | 575 | | |
| Asp | His | Asp | Leu | Met | Leu | Ser | Tyr | Arg | Glu | Ala | Lys | Asp | Gly | Gln | Ile | |
| | | | | 580 | | | | | 585 | | | | | 590 | | |
| Leu | His | Glu | Gly | Ile | Asn | Glu | Ala | Gly | Ser | Val | Ala | Ser | Phe | Ile | Ala | |
| | | | | 595 | | | | | 600 | | | | | 605 | | |
| Ala | Gly | Thr | Ser | Tyr | Ala | Thr | His | Gly | Glu | Ala | Met | Ile | Pro | Leu | Tyr | |
| | | | | 610 | | | | | 615 | | | | | 620 | | |
| Ile | Phe | Tyr | Ser | Met | Phe | Gly | Phe | Gln | Arg | Thr | Gly | Asp | Gly | Ile | Trp | |
| | | | | 625 | | | | | 630 | | | | | 635 | | |
| Ala | Ala | Ala | Asp | Gln | Met | Thr | Arg | Gly | Phe | Leu | Leu | Gly | Ala | Thr | Ala | |
| | | | | 645 | | | | | 650 | | | | | 655 | | |
| Gly | Arg | Thr | Thr | Leu | Thr | Gly | Glu | Gly | Leu | Gln | His | Met | Asp | Gly | His | |
| | | | | 660 | | | | | 665 | | | | | 670 | | |
| Ser | Pro | Ile | Leu | Ala | Ser | Thr | Asn | Pro | Gly | Val | Glu | Thr | Tyr | Asp | Pro | |
| | | | | 675 | | | | | 680 | | | | | 685 | | |
| Ala | Phe | Ser | Tyr | Glu | Ile | Ala | His | Leu | Val | His | Arg | Gly | Ile | Asp | Arg | |
| | | | | 690 | | | | | 695 | | | | | 700 | | |
| Met | Tyr | Gly | Pro | Gly | Lys | Gly | Glu | Asn | Val | Ile | Tyr | Tyr | Leu | Thr | Ile | |
| | | | | 705 | | | | | 710 | | | | | 715 | | |
| Tyr | Asn | Glu | Pro | Thr | Pro | Gln | Pro | Ala | Glu | Pro | Glu | Asp | Leu | Asp | Val | |
| | | | | 725 | | | | | 730 | | | | | 735 | | |
| Glu | Gly | Leu | His | Lys | Gly | Ile | Tyr | Leu | Tyr | Asp | Lys | Ala | Ala | Glu | Gly | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

43/123

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 740 | | | | | 745 | | | | | 750 | | | | | |
| Glu | Gly | His | Glu | Ala | Ser | Ile | Leu | Ala | Ser | Gly | Ile | Gly | Met | Gln | Trp |
| 755 | | | | | 760 | | | | | 765 | | | | | |
| Ala | Leu | Arg | Ala | Arg | Asp | Ile | Leu | Ala | Glu | Asp | Tyr | Gly | Ile | Arg | Ala |
| 770 | | | | | 775 | | | | | 780 | | | | | |
| Asn | Ile | Phe | Ser | Ala | Thr | Ser | Trp | Val | Glu | Leu | Ala | Arg | Asp | Gly | Ala |
| 785 | | | | | 790 | | | | | 795 | | | | | |
| Arg | Arg | Asn | Leu | Glu | Ala | Leu | Arg | Asn | Pro | Gly | Ala | Asp | Val | Gly | Glu |
| 805 | | | | | 810 | | | | | 815 | | | | | |
| Ala | Phe | Val | Thr | Thr | Gln | Leu | Lys | Lys | Gly | Ser | Gly | Pro | Tyr | Val | Ala |
| 820 | | | | | 825 | | | | | 830 | | | | | |
| Val | Ser | Asp | Phe | Ala | Thr | Asp | Leu | Pro | Asn | Gln | Ile | Arg | Glu | Trp | Val |
| 835 | | | | | 840 | | | | | 845 | | | | | |
| Pro | Gly | Asp | Tyr | Ile | Val | Leu | Gly | Ala | Asp | Gly | Phe | Gly | Phe | Ser | Asp |
| 850 | | | | | 855 | | | | | 860 | | | | | |
| Thr | Arg | Pro | Ala | Ala | Arg | Arg | Tyr | Phe | Asn | Ile | Asp | Ala | Glu | Ser | Ile |
| 865 | | | | | 870 | | | | | 875 | | | | | |
| Val | Val | Ala | Val | Leu | Arg | Gly | Leu | Val | Arg | Glu | Gly | Val | Ile | Asp | Ala |
| 885 | | | | | 890 | | | | | 895 | | | | | |
| Ser | Val | Ala | Ala | His | Ala | Ala | Glu | Lys | Tyr | Lys | Leu | Ser | Asp | Pro | Thr |
| 900 | | | | | 905 | | | | | 910 | | | | | |
| Ala | Pro | Gln | Val | Asp | Pro | Asp | Ala | Pro | Ile | Glu | | | | | |
| 915 | | | | | 920 | | | | | | | | | | |

<210> 23

<211> 4013

<212> DNA

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<220>

<221> CDS

<222> (319)..(3735)

<400> 23

```

gtcctttttg caaattctgc aaagtgggta gaggtcagat gtcagcaggt cgggtccgatt 60
tctgtaggaa agtggagccg ttgggggcaa cattaacctt cccctggga tgtagctaaa 120
cggcaatggg ggtctcgggc ggggggcatt cttttcacgg caaggtggtg aaattccgca 180
ggctactccc cggccggcgg tagagaacgg agcgaaaacg gaaagcaata cgtggttttc 240
cggactggcc gttacgatgt tctgaagagt gactgccatc acccaacagg ctggtcctcg 300
tcgaaaggaa caaaaact gtg gtt aca aca aca ccc tcc acg ctg ccg gcg 351
                Val Val Thr Thr Thr Pro Ser Thr Leu Pro Ala
                    1             5             10
ttc aaa aag atc ctg gtg gcc aac cga ggt gaa atc gcg gtg cga gca 399

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|--|
| Phe | Lys | Lys | Ile | Leu | Val | Ala | Asn | Arg | Gly | Glu | Ile | Ala | Val | Arg | Ala | | |
| | | | 15 | | | | | 20 | | | | | 25 | | | | |
| ttc | cgc | gcc | gcc | tac | gag | acc | ggg | gcc | gca | acc | gtg | gcc | atc | tac | ccc | 447 | |
| Phe | Arg | Ala | Ala | Tyr | Glu | Thr | Gly | Ala | Ala | Thr | Val | Ala | Ile | Tyr | Pro | | |
| | | 30 | | | | | 35 | | | | | 40 | | | | | |
| cgg | gag | gac | cgt | ggc | tcc | ttc | cac | cgc | tcc | ttc | gcc | tcc | gag | gcg | gtg | 495 | |
| Arg | Glu | Asp | Arg | Gly | Ser | Phe | His | Arg | Ser | Phe | Ala | Ser | Glu | Ala | Val | | |
| | 45 | | | | | 50 | | | | | 55 | | | | | | |
| agg | atc | gga | acc | gag | ggc | tca | ccc | gtc | aag | gcg | tac | ctc | gat | att | gat | 543 | |
| Arg | Ile | Gly | Thr | Glu | Gly | Ser | Pro | Val | Lys | Ala | Tyr | Leu | Asp | Ile | Asp | | |
| 60 | | | | | 65 | | | | 70 | | | | | | 75 | | |
| gag | atc | atc | aac | gcc | gcc | aag | aag | gtg | aaa | gcg | gac | gcg | gtc | tac | ccg | 591 | |
| Glu | Ile | Ile | Asn | Ala | Ala | Lys | Lys | Val | Lys | Ala | Asp | Ala | Val | Tyr | Pro | | |
| | | | 80 | | | | | 85 | | | | | 90 | | | | |
| ggg | tat | ggt | ttc | ctt | tcg | gaa | aat | gcc | cag | ctc | gcg | cgt | gaa | tgc | gcg | 639 | |
| Gly | Tyr | Gly | Phe | Leu | Ser | Glu | Asn | Ala | Gln | Leu | Ala | Arg | Glu | Cys | Ala | | |
| | | | 95 | | | | 100 | | | | | 105 | | | | | |
| gag | aac | ggc | att | acc | ttc | atc | ggt | ccc | acc | ccg | gag | gtg | ctc | gac | ctc | 687 | |
| Glu | Asn | Gly | Ile | Thr | Phe | Ile | Gly | Pro | Thr | Pro | Glu | Val | Leu | Asp | Leu | | |
| | 110 | | | | | | 115 | | | | | 120 | | | | | |
| acg | ggc | gac | aag | tcc | aag | gct | gtg | tcc | gcc | gcg | aag | aag | gcc | ggg | ctg | 735 | |
| Thr | Gly | Asp | Lys | Ser | Lys | Ala | Val | Ser | Ala | Ala | Lys | Lys | Ala | Gly | Leu | | |
| | 125 | | | | | 130 | | | | | 135 | | | | | | |
| ccg | gtg | ctg | gcg | gaa | tcc | acc | ccc | agc | acc | gac | atc | gat | gag | atc | gtc | 783 | |
| Pro | Val | Leu | Ala | Glu | Ser | Thr | Pro | Ser | Thr | Asp | Ile | Asp | Glu | Ile | Val | | |
| 140 | | | | | 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | |
| aag | agt | gcc | gag | ggg | cag | acc | tac | ccg | atc | ttc | gtc | aag | gcc | gtc | gca | 831 | |
| Lys | Ser | Ala | Glu | Gly | Gln | Thr | Tyr | Pro | Ile | Phe | Val | Lys | Ala | Val | Ala | | |
| | | | 160 | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | |
| ggt | ggt | ggc | ggg | cgt | ggt | atg | cgg | ttc | gtc | gag | aag | ccc | gag | gac | ctg | 879 | |
| Gly | Gly | Gly | Gly | Arg | Gly | Met | Arg | Phe | Val | Glu | Lys | Pro | Glu | Asp | Leu | | |
| | | | 175 | | | | 180 | | | | | 185 | | | | | |
| cgt | gag | ctg | gcc | agg | gag | gcc | tcc | cgc | gag | gcg | gag | gcc | gct | ttc | ggt | 927 | |
| Arg | Glu | Leu | Ala | Arg | Glu | Ala | Ser | Arg | Glu | Ala | Glu | Ala | Ala | Phe | Gly | | |
| | | 190 | | | | | 195 | | | | | 200 | | | | | |
| gac | gga | tcc | gtc | tac | gtc | gaa | cgg | gcc | gtg | atc | aaa | ccc | cag | cac | atc | 975 | |
| Asp | Gly | Ser | Val | Tyr | Val | Glu | Arg | Ala | Val | Ile | Lys | Pro | Gln | His | Ile | | |
| | 205 | | | | | 210 | | | | | 215 | | | | | | |
| gag | gtg | cag | atc | ctc | ggt | gat | cac | acc | ggc | gat | gtc | atc | cac | ctg | tat | 1023 | |
| Glu | Val | Gln | Ile | Leu | Gly | Asp | His | Thr | Gly | Asp | Val | Ile | His | Leu | Tyr | | |
| 220 | | | | | 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | |
| gaa | cgc | gac | tgt | tcc | ctg | cag | cgc | cgc | cac | cag | aag | gtc | gtg | gag | atc | 1071 | |
| Glu | Arg | Asp | Cys | Ser | Leu | Gln | Arg | Arg | His | Gln | Lys | Val | Val | Glu | Ile | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

45/123

| | | | | | | |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| | 240 | | 245 | | 250 | |
| gca cct gcc cag cac ctc gac ccg gag ctg cgc gac cgc atc tgt gcc | | | | | | 1119 |
| Ala Pro Ala Gln His Leu Asp Pro Glu Leu Arg Asp Arg Ile Cys Ala | | | | | | |
| | 255 | | 260 | | 265 | |
| gat gcc gtg aag ttc tgc aaa tcc atc gga tac cag ggc gcc ggc acc | | | | | | 1167 |
| Asp Ala Val Lys Phe Cys Lys Ser Ile Gly Tyr Gln Gly Ala Gly Thr | | | | | | |
| | 270 | | 275 | | 280 | |
| gtg gag ttc ctc gtc gac gag gcg ggc aac cac gtc ttc att gag atg | | | | | | 1215 |
| Val Glu Phe Leu Val Asp Glu Ala Gly Asn His Val Phe Ile Glu Met | | | | | | |
| | 285 | | 290 | | 295 | |
| aac ccc cgc atc cag gtg gaa cac acc gtg acc gag gag gtc acc tcc | | | | | | 1263 |
| Asn Pro Arg Ile Gln Val Glu His Thr Val Thr Glu Glu Val Thr Ser | | | | | | |
| 300 | | 305 | | 310 | | 315 |
| gtc gac ctg gtc aag gcg cag atg cac ctg gcc gcc ggt gcc acc ctg | | | | | | 1311 |
| Val Asp Leu Val Lys Ala Gln Met His Leu Ala Ala Gly Ala Thr Leu | | | | | | |
| | 320 | | 325 | | 330 | |
| aag gaa ctg ggc ctg acc cag gac aag atc acc acc cac ggt gcc gcc | | | | | | 1359 |
| Lys Glu Leu Gly Leu Thr Gln Asp Lys Ile Thr Thr His Gly Ala Ala | | | | | | |
| | 335 | | 340 | | 345 | |
| ctg cag tgc cgc atc acc acg gag gac ccg tcc aac aac ttc cgg ccc | | | | | | 1407 |
| Leu Gln Cys Arg Ile Thr Thr Glu Asp Pro Ser Asn Asn Phe Arg Pro | | | | | | |
| | 350 | | 355 | | 360 | |
| gac acc ggt gtg atc acc gcc tac cgc tcc ccg ggt ggt gcg ggt gtg | | | | | | 1455 |
| Asp Thr Gly Val Ile Thr Ala Tyr Arg Ser Pro Gly Gly Ala Gly Val | | | | | | |
| | 365 | | 370 | | 375 | |
| cgt ctc gac ggc gca gcc cag ctc ggc ggc gag atc acc gca cat ttc | | | | | | 1503 |
| Arg Leu Asp Gly Ala Ala Gln Leu Gly Gly Glu Ile Thr Ala His Phe | | | | | | |
| 380 | | 385 | | 390 | | 395 |
| gat tcc atg ctg gtc aag atg acc tgc cgc ggt tcc gat ttc gag acc | | | | | | 1551 |
| Asp Ser Met Leu Val Lys Met Thr Cys Arg Gly Ser Asp Phe Glu Thr | | | | | | |
| | 400 | | 405 | | 410 | |
| gcc gtg tcc cga gcc cag cgc gcc ctg gcg gag ttc aac gtc tcc ggc | | | | | | 1599 |
| Ala Val Ser Arg Ala Gln Arg Ala Leu Ala Glu Phe Asn Val Ser Gly | | | | | | |
| | 415 | | 420 | | 425 | |
| gtg gcc acc aac atc ggc ttc ctg cgt gcg ctg ctg cgc gag gaa gac | | | | | | 1647 |
| Val Ala Thr Asn Ile Gly Phe Leu Arg Ala Leu Leu Arg Glu Glu Asp | | | | | | |
| | 430 | | 435 | | 440 | |
| ttc acc aag agg cgc atc gac acc ggc ttc atc ggc tcc cac cag cac | | | | | | 1695 |
| Phe Thr Lys Arg Arg Ile Asp Thr Gly Phe Ile Gly Ser His Gln His | | | | | | |
| | 445 | | 450 | | 455 | |
| ctg ctc cag gcc cca ccg gcc gac gat gag cag ggg cgg atc ctg gaa | | | | | | 1743 |
| Leu Leu Gln Ala Pro Pro Ala Asp Asp Glu Gln Gly Arg Ile Leu Glu | | | | | | |
| 460 | | 465 | | 470 | | 475 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

| | |
|---|------|
| tac ctg gcg gat gtc acc gtg aac aaa ccc cac ggt gaa cgc ccc gag | 1791 |
| Tyr Leu Ala Asp Val Thr Val Asn Lys Pro His Gly Glu Arg Pro Glu | |
| 480 485 490 | |
| aca gcc cgt ccg ata gag aag ctg ccc gag gtg gag aac atc ccg ctg | 1839 |
| Thr Ala Arg Pro Ile Glu Lys Leu Pro Glu Val Glu Asn Ile Pro Leu | |
| 495 500 505 | |
| cca cgc ggc tcc cgc gac cgc ctg aag cag ctc ggc ccg gag ggt ttc | 1887 |
| Pro Arg Gly Ser Arg Asp Arg Leu Lys Gln Leu Gly Pro Glu Gly Phe | |
| 510 515 520 | |
| gcc cgc gat ctg cgc gaa cag gat gcc ctg gcc gtc acc gac acc acc | 1935 |
| Ala Arg Asp Leu Arg Glu Gln Asp Ala Leu Ala Val Thr Asp Thr Thr | |
| 525 530 535 | |
| ttc cgc gat gcc cac cag tcc ctc ctg gcc acc cgc gtg cgc tcc ttc | 1983 |
| Phe Arg Asp Ala His Gln Ser Leu Leu Ala Thr Arg Val Arg Ser Phe | |
| 540 545 550 555 | |
| gcg ctg acc ccg gcg gcg cgc gcc gtc gca aag ctc acc ccc gag ctg | 2031 |
| Ala Leu Thr Pro Ala Ala Arg Ala Val Ala Lys Leu Thr Pro Glu Leu | |
| 560 565 570 | |
| ctg tcg gtg gag gcc tgg ggc ggt gcc acc tac gac gtg gcc atg cgc | 2079 |
| Leu Ser Val Glu Ala Trp Gly Gly Ala Thr Tyr Asp Val Ala Met Arg | |
| 575 580 585 | |
| ttc ctc ttc gag gat ccg tgg gca cgc ctg gat gag ctg cgt gag gcg | 2127 |
| Phe Leu Phe Glu Asp Pro Trp Ala Arg Leu Asp Glu Leu Arg Glu Ala | |
| 590 595 600 | |
| atg ccg aat gtg aac atc cag atg ctg ctg cgt ggt cgc aac acc gtc | 2175 |
| Met Pro Asn Val Asn Ile Gln Met Leu Leu Arg Gly Arg Asn Thr Val | |
| 605 610 615 | |
| ggg tac acc ccg tac ccc gat tcg gtg tgc cgc gcg ttt gtg cag gag | 2223 |
| Gly Tyr Thr Pro Tyr Pro Asp Ser Val Cys Arg Ala Phe Val Gln Glu | |
| 620 625 630 635 | |
| gcc gcc aag tcc ggt gtg gac atc ttc cgc atc ttc gac gcg ctc aac | 2271 |
| Ala Ala Lys Ser Gly Val Asp Ile Phe Arg Ile Phe Asp Ala Leu Asn | |
| 640 645 650 | |
| gac atc tcc cag atg cgc ccg gcc atc gac gcc gtc ctg gag acc ggc | 2319 |
| Asp Ile Ser Gln Met Arg Pro Ala Ile Asp Ala Val Leu Glu Thr Gly | |
| 655 660 665 | |
| acc agt gtt gcc gag gtc gcc atg gcg tac tcc ggt gac ctg tcc aat | 2367 |
| Thr Ser Val Ala Glu Val Ala Met Ala Tyr Ser Gly Asp Leu Ser Asn | |
| 670 675 680 | |
| ccg ggg gag aag ctc tac acc ctg gac tac tac ctg aac ctg gcc gag | 2415 |
| Pro Gly Glu Lys Leu Tyr Thr Leu Asp Tyr Tyr Leu Asn Leu Ala Glu | |
| 685 690 695 | |
| cag atc gtc gac tcc ggt gca cac atc ctg gcc atc aag gac atg gcc | 2463 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

47/123

| | |
|---|------|
| Gln Ile Val Asp Ser Gly Ala His Ile Leu Ala Ile Lys Asp Met Ala | |
| 700 705 710 715 | |
| ggc ctg ctg cgc cgc gcc gcg gcg ccc aaa ctg gtc acc gcc ctg cgc | 2511 |
| Gly Leu Leu Arg Arg Ala Ala Ala Pro Lys Leu Val Thr Ala Leu Arg | |
| 720 725 730 | |
| cgt gaa ttc gac ctg ccc gtg cat gtc cac acc cac gac acc gcc ggc | 2559 |
| Arg Glu Phe Asp Leu Pro Val His Val His Thr His Asp Thr Ala Gly | |
| 735 740 745 | |
| ggt cag ctg gcc acc tac ctg gcc gcc gcc aac gcc ggg gcc gat gcc | 2607 |
| Gly Gln Leu Ala Thr Tyr Leu Ala Ala Ala Asn Ala Gly Ala Asp Ala | |
| 750 755 760 | |
| gtc gac gcc gcc tcc gca ccc ctg tcc ggt acc acc tcc cag ccg tcg | 2655 |
| Val Asp Ala Ala Ser Ala Pro Leu Ser Gly Thr Thr Ser Gln Pro Ser | |
| 765 770 775 | |
| atg tcc gct ctg gtt gcc gcg ttt gcg cac acc cga cgc gac acc ggc | 2703 |
| Met Ser Ala Leu Val Ala Ala Phe Ala His Thr Arg Arg Asp Thr Gly | |
| 780 785 790 795 | |
| ctc aac ctg cag gcc gtc tcc gac ctg gaa ccg tac tgg gag gcg gtc | 2751 |
| Leu Asn Leu Gln Ala Val Ser Asp Leu Glu Pro Tyr Trp Glu Ala Val | |
| 800 805 810 | |
| cgc gga ctg tac ctg ccg ttt gaa tcc ggc acc ccg ggc ccg acc gga | 2799 |
| Arg Gly Leu Tyr Leu Pro Phe Glu Ser Gly Thr Pro Gly Pro Thr Gly | |
| 815 820 825 | |
| cgc gtt tac cgc cac gag atc ccc ggc ggt cag ctg tcc aac ctg cgt | 2847 |
| Arg Val Tyr Arg His Glu Ile Pro Gly Gly Gln Leu Ser Asn Leu Arg | |
| 830 835 840 | |
| gcc cag gcc gtt gca ctg ggt ctg gcc gac cgc ttc gag ctc atc gag | 2895 |
| Ala Gln Ala Val Ala Leu Gly Leu Ala Asp Arg Phe Glu Leu Ile Glu | |
| 845 850 855 | |
| gac tac tac gcg gcc gtc aac gag atg ctg ggt cgt ccg acc aag gtc | 2943 |
| Asp Tyr Tyr Ala Ala Val Asn Glu Met Leu Gly Arg Pro Thr Lys Val | |
| 860 865 870 875 | |
| acc ccg tcc tcc aag gtt gtc ggt gac ctc gca ctg cac ctc gtc ggt | 2991 |
| Thr Pro Ser Ser Lys Val Val Gly Asp Leu Ala Leu His Leu Val Gly | |
| 880 885 890 | |
| gcc ggt gtg agc ccg gag gat ttc gcc gcc gat ccg cag aag tac gac | 3039 |
| Ala Gly Val Ser Pro Glu Asp Phe Ala Ala Asp Pro Gln Lys Tyr Asp | |
| 895 900 905 | |
| atc ccc gat tcg gtc atc gcc ttc ctc cgc ggc gaa ctg ggt acc cct | 3087 |
| Ile Pro Asp Ser Val Ile Ala Phe Leu Arg Gly Glu Leu Gly Thr Pro | |
| 910 915 920 | |
| ccc ggt ggc tgg ccc gaa ccg ctg cgc acc cgt gca ctc gag ggt cgc | 3135 |
| Pro Gly Gly Trp Pro Glu Pro Leu Arg Thr Arg Ala Leu Glu Gly Arg | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

48/123

| | | | |
|--|------|------|------|
| 925 | 930 | 935 | |
| tcc cag ggt aag gcc ccg ctg gcg gag atc ccc gcc gag gag cag gcc | | | 3183 |
| Ser Gln Gly Lys Ala Pro Leu Ala Glu Ile Pro Ala Glu Glu Gln Ala | | | |
| 940 | 945 | 950 | 955 |
| cac ctg gat tcc gat gat tcc gcg gag cgt cgc gcc acc ctc aac cgc | | | 3231 |
| His Leu Asp Ser Asp Asp Ser Ala Glu Arg Arg Gly Thr Leu Asn Arg | | | |
| 960 | 965 | 970 | |
| ctg ctg ttc ccg aag ccg acc gag gag ttc ctt gag cac cgt cgc cgc | | | 3279 |
| Leu Leu Phe Pro Lys Pro Thr Glu Glu Phe Leu Glu His Arg Arg Arg | | | |
| 975 | 980 | 985 | |
| ttc gcc aac acc tcc gcc ctg gat gac cgc gag ttc ttc tac gcc ttg | | | 3327 |
| Phe Gly Asn Thr Ser Ala Leu Asp Asp Arg Glu Phe Phe Tyr Gly Leu | | | |
| 990 | 995 | 1000 | |
| aag gag gga cgt gag gag ctg atc cga ctg acc ggt gtg tcc acc ccg | | | 3375 |
| Lys Glu Gly Arg Glu Glu Leu Ile Arg Leu Thr Gly Val Ser Thr Pro | | | |
| 1005 | 1010 | 1015 | |
| atg gtg gtc cgc ctg gat gcg gtg tcc gaa ccg gat gac aaa gcc atg | | | 3423 |
| Met Val Val Arg Leu Asp Ala Val Ser Glu Pro Asp Asp Lys Gly Met | | | |
| 1020 | 1025 | 1030 | 1035 |
| cgc aac gtg gtg gtc aac gtc aac gcc cag atc cgc ccg atc aag gtg | | | 3471 |
| Arg Asn Val Val Val Asn Val Asn Gly Gln Ile Arg Pro Ile Lys Val | | | |
| 1040 | 1045 | 1050 | |
| cgc gac cgt tcc gtg gag tcc gtc acc gcc acc gcg gag aag gcc gat | | | 3519 |
| Arg Asp Arg Ser Val Glu Ser Val Thr Ala Thr Ala Glu Lys Ala Asp | | | |
| 1055 | 1060 | 1065 | |
| gcc acc aac aag gcc cat gtc gcc gca cca ttc gcc ggt gtg gtc acc | | | 3567 |
| Ala Thr Asn Lys Gly His Val Ala Ala Pro Phe Ala Gly Val Val Thr | | | |
| 1070 | 1075 | 1080 | |
| gtg acc gtc gcc gag ggt gat gag atc aag gct gcc gac gcc gtg gcc | | | 3615 |
| Val Thr Val Ala Glu Gly Asp Glu Ile Lys Ala Gly Asp Ala Val Ala | | | |
| 1085 | 1090 | 1095 | |
| atc att gag gcc atg aag atg gag gcc acc atc acc gcg cct gtc gac | | | 3663 |
| Ile Ile Glu Ala Met Lys Met Glu Ala Thr Ile Thr Ala Pro Val Asp | | | |
| 1100 | 1105 | 1110 | 1115 |
| ggt gtc atc gac cgc gtc gtg gtg ccc gcc gcc acc aag gtc gag gcc | | | 3711 |
| Gly Val Ile Asp Arg Val Val Val Pro Ala Ala Thr Lys Val Glu Gly | | | |
| 1120 | 1125 | 1130 | |
| ggc gac ctc atc gtg gtc gtg tcc tagcgactga gagccacaac ccgtcccg | | | 3765 |
| Gly Asp Leu Ile Val Val Val Ser | | | |
| 1135 | | | |
| tgccttggtta tcaacctccc cctgatgatg ttctcagggg gaggetctac gtacctcacc | | | 3825 |
| gtgacgggtgc atgtatatcg tctgtctgga gagaatgctc caggtaggaa cgccaaccac | | | 3885 |
| cccactccgt gatgtccgt gctgatccca ggcaggccgg ttggaaagaa aaaccagtga | | | 3945 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

49/123

tggaacggcc atcgacagc gagacggaac caagcgatcat cggctccggt agagcgggtga 4005
 ggagcctg 4013

<210> 24

<211> 1139

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 24

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Val | Thr | Thr | Thr | Pro | Ser | Thr | Leu | Pro | Ala | Phe | Lys | Lys | Ile | Leu |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | |
| Val | Ala | Asn | Arg | Gly | Glu | Ile | Ala | Val | Arg | Ala | Phe | Arg | Ala | Ala | Tyr |
| | | 20 | | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Glu | Thr | Gly | Ala | Ala | Thr | Val | Ala | Ile | Tyr | Pro | Arg | Glu | Asp | Arg | Gly |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Ser | Phe | His | Arg | Ser | Phe | Ala | Ser | Glu | Ala | Val | Arg | Ile | Gly | Thr | Glu |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Gly | Ser | Pro | Val | Lys | Ala | Tyr | Leu | Asp | Ile | Asp | Glu | Ile | Ile | Asn | Ala |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |
| Ala | Lys | Lys | Val | Lys | Ala | Asp | Ala | Val | Tyr | Pro | Gly | Tyr | Gly | Phe | Leu |
| | | | | 85 | | | | 90 | | | | | | 95 | |
| Ser | Glu | Asn | Ala | Gln | Leu | Ala | Arg | Glu | Cys | Ala | Glu | Asn | Gly | Ile | Thr |
| | | 100 | | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Phe | Ile | Gly | Pro | Thr | Pro | Glu | Val | Leu | Asp | Leu | Thr | Gly | Asp | Lys | Ser |
| | 115 | | | | | 120 | | | | | | 125 | | | |
| Lys | Ala | Val | Ser | Ala | Ala | Lys | Lys | Ala | Gly | Leu | Pro | Val | Leu | Ala | Glu |
| 130 | | | | | | 135 | | | | 140 | | | | | |
| Ser | Thr | Pro | Ser | Thr | Asp | Ile | Asp | Glu | Ile | Val | Lys | Ser | Ala | Glu | Gly |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |
| Gln | Thr | Tyr | Pro | Ile | Phe | Val | Lys | Ala | Val | Ala | Gly | Gly | Gly | Gly | Arg |
| | | | | 165 | | | | 170 | | | | | | 175 | |
| Gly | Met | Arg | Phe | Val | Glu | Lys | Pro | Glu | Asp | Leu | Arg | Glu | Leu | Ala | Arg |
| | | 180 | | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Glu | Ala | Ser | Arg | Glu | Ala | Glu | Ala | Ala | Phe | Gly | Asp | Gly | Ser | Val | Tyr |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| Val | Glu | Arg | Ala | Val | Ile | Lys | Pro | Gln | His | Ile | Glu | Val | Gln | Ile | Leu |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Gly | Asp | His | Thr | Gly | Asp | Val | Ile | His | Leu | Tyr | Glu | Arg | Asp | Cys | Ser |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 |
| Leu | Gln | Arg | Arg | His | Gln | Lys | Val | Val | Glu | Ile | Ala | Pro | Ala | Gln | His |
| | | | | 245 | | | | 250 | | | | | | 255 | |
| Leu | Asp | Pro | Glu | Leu | Arg | Asp | Arg | Ile | Cys | Ala | Asp | Ala | Val | Lys | Phe |
| | | 260 | | | | | | 265 | | | | | 270 | | |
| Cys | Lys | Ser | Ile | Gly | Tyr | Gln | Gly | Ala | Gly | Thr | Val | Glu | Phe | Leu | Val |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

50/123

| | | |
|---|-----|-----|
| 275 | 280 | 285 |
| Asp Glu Ala Gly Asn His Val Phe Ile Glu Met Asn Pro Arg Ile Gln | | |
| 290 | 295 | 300 |
| Val Glu His Thr Val Thr Glu Glu Val Thr Ser Val Asp Leu Val Lys | | |
| 305 | 310 | 315 |
| Ala Gln Met His Leu Ala Ala Gly Ala Thr Leu Lys Glu Leu Gly Leu | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Thr Gln Asp Lys Ile Thr Thr His Gly Ala Ala Leu Gln Cys Arg Ile | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Thr Thr Glu Asp Pro Ser Asn Asn Phe Arg Pro Asp Thr Gly Val Ile | | |
| 355 | 360 | 365 |
| Thr Ala Tyr Arg Ser Pro Gly Gly Ala Gly Val Arg Leu Asp Gly Ala | | |
| 370 | 375 | 380 |
| Ala Gln Leu Gly Gly Glu Ile Thr Ala His Phe Asp Ser Met Leu Val | | |
| 385 | 390 | 395 |
| Lys Met Thr Cys Arg Gly Ser Asp Phe Glu Thr Ala Val Ser Arg Ala | | |
| 405 | 410 | 415 |
| Gln Arg Ala Leu Ala Glu Phe Asn Val Ser Gly Val Ala Thr Asn Ile | | |
| 420 | 425 | 430 |
| Gly Phe Leu Arg Ala Leu Leu Arg Glu Glu Asp Phe Thr Lys Arg Arg | | |
| 435 | 440 | 445 |
| Ile Asp Thr Gly Phe Ile Gly Ser His Gln His Leu Leu Gln Ala Pro | | |
| 450 | 455 | 460 |
| Pro Ala Asp Asp Glu Gln Gly Arg Ile Leu Glu Tyr Leu Ala Asp Val | | |
| 465 | 470 | 475 |
| Thr Val Asn Lys Pro His Gly Glu Arg Pro Glu Thr Ala Arg Pro Ile | | |
| 485 | 490 | 495 |
| Glu Lys Leu Pro Glu Val Glu Asn Ile Pro Leu Pro Arg Gly Ser Arg | | |
| 500 | 505 | 510 |
| Asp Arg Leu Lys Gln Leu Gly Pro Glu Gly Phe Ala Arg Asp Leu Arg | | |
| 515 | 520 | 525 |
| Glu Gln Asp Ala Leu Ala Val Thr Asp Thr Thr Phe Arg Asp Ala His | | |
| 530 | 535 | 540 |
| Gln Ser Leu Leu Ala Thr Arg Val Arg Ser Phe Ala Leu Thr Pro Ala | | |
| 545 | 550 | 555 |
| Ala Arg Ala Val Ala Lys Leu Thr Pro Glu Leu Leu Ser Val Glu Ala | | |
| 565 | 570 | 575 |
| Trp Gly Gly Ala Thr Tyr Asp Val Ala Met Arg Phe Leu Phe Glu Asp | | |
| 580 | 585 | 590 |
| Pro Trp Ala Arg Leu Asp Glu Leu Arg Glu Ala Met Pro Asn Val Asn | | |
| 595 | 600 | 605 |
| Ile Gln Met Leu Leu Arg Gly Arg Asn Thr Val Gly Tyr Thr Pro Tyr | | |
| 610 | 615 | 620 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

51/123

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Pro | Asp | Ser | Val | Cys | Arg | Ala | Phe | Val | Gln | Glu | Ala | Ala | Lys | Ser | Gly | 625 | 630 | 635 | 640 |
| Val | Asp | Ile | Phe | Arg | Ile | Phe | Asp | Ala | Leu | Asn | Asp | Ile | Ser | Gln | Met | 645 | 650 | 655 | |
| Arg | Pro | Ala | Ile | Asp | Ala | Val | Leu | Glu | Thr | Gly | Thr | Ser | Val | Ala | Glu | 660 | 665 | 670 | |
| Val | Ala | Met | Ala | Tyr | Ser | Gly | Asp | Leu | Ser | Asn | Pro | Gly | Glu | Lys | Leu | 675 | 680 | 685 | |
| Tyr | Thr | Leu | Asp | Tyr | Tyr | Leu | Asn | Leu | Ala | Glu | Gln | Ile | Val | Asp | Ser | 690 | 695 | 700 | |
| Gly | Ala | His | Ile | Leu | Ala | Ile | Lys | Asp | Met | Ala | Gly | Leu | Leu | Arg | Arg | 705 | 710 | 715 | 720 |
| Ala | Ala | Ala | Pro | Lys | Leu | Val | Thr | Ala | Leu | Arg | Arg | Glu | Phe | Asp | Leu | 725 | 730 | 735 | |
| Pro | Val | His | Val | His | Thr | His | Asp | Thr | Ala | Gly | Gly | Gln | Leu | Ala | Thr | 740 | 745 | 750 | |
| Tyr | Leu | Ala | Ala | Ala | Asn | Ala | Gly | Ala | Asp | Ala | Val | Asp | Ala | Ala | Ser | 755 | 760 | 765 | |
| Ala | Pro | Leu | Ser | Gly | Thr | Thr | Ser | Gln | Pro | Ser | Met | Ser | Ala | Leu | Val | 770 | 775 | 780 | |
| Ala | Ala | Phe | Ala | His | Thr | Arg | Arg | Asp | Thr | Gly | Leu | Asn | Leu | Gln | Ala | 785 | 790 | 795 | 800 |
| Val | Ser | Asp | Leu | Glu | Pro | Tyr | Trp | Glu | Ala | Val | Arg | Gly | Leu | Tyr | Leu | 805 | 810 | 815 | |
| Pro | Phe | Glu | Ser | Gly | Thr | Pro | Gly | Pro | Thr | Gly | Arg | Val | Tyr | Arg | His | 820 | 825 | 830 | |
| Glu | Ile | Pro | Gly | Gly | Gln | Leu | Ser | Asn | Leu | Arg | Ala | Gln | Ala | Val | Ala | 835 | 840 | 845 | |
| Leu | Gly | Leu | Ala | Asp | Arg | Phe | Glu | Leu | Ile | Glu | Asp | Tyr | Tyr | Ala | Ala | 850 | 855 | 860 | |
| Val | Asn | Glu | Met | Leu | Gly | Arg | Pro | Thr | Lys | Val | Thr | Pro | Ser | Ser | Lys | 865 | 870 | 875 | 880 |
| Val | Val | Gly | Asp | Leu | Ala | Leu | His | Leu | Val | Gly | Ala | Gly | Val | Ser | Pro | 885 | 890 | 895 | |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Ala | Asp | Pro | Gln | Lys | Tyr | Asp | Ile | Pro | Asp | Ser | Val | 900 | 905 | 910 | |
| Ile | Ala | Phe | Leu | Arg | Gly | Glu | Leu | Gly | Thr | Pro | Pro | Gly | Gly | Trp | Pro | 915 | 920 | 925 | |
| Glu | Pro | Leu | Arg | Thr | Arg | Ala | Leu | Glu | Gly | Arg | Ser | Gln | Gly | Lys | Ala | 930 | 935 | 940 | |
| Pro | Leu | Ala | Glu | Ile | Pro | Ala | Glu | Glu | Gln | Ala | His | Leu | Asp | Ser | Asp | 945 | 950 | 955 | 960 |
| Asp | Ser | Ala | Glu | Arg | Arg | Gly | Thr | Leu | Asn | Arg | Leu | Leu | Phe | Pro | Lys | | | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

52/123

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|------|------|------|-----|-----|-----|--|--|--|--|
| | | | | 965 | | | | | | 970 | | | | | 975 | | | | |
| Pro | Thr | Glu | Glu | Phe | Leu | Glu | His | Arg | Arg | Arg | Phe | Gly | Asn | Thr | Ser | | | | |
| | | | 980 | | | | | 985 | | | | | 990 | | | | | | |
| Ala | Leu | Asp | Asp | Arg | Glu | Phe | Phe | Tyr | Gly | Leu | Lys | Glu | Gly | Arg | Glu | | | | |
| | | 995 | | | | | 1000 | | | | | 1005 | | | | | | | |
| Glu | Leu | Ile | Arg | Leu | Thr | Gly | Val | Ser | Thr | Pro | Met | Val | Val | Arg | Leu | | | | |
| | 1010 | | | | | 1015 | | | | | 1020 | | | | | | | | |
| Asp | Ala | Val | Ser | Glu | Pro | Asp | Asp | Lys | Gly | Met | Arg | Asn | Val | Val | Val | | | | |
| 025 | | | | 1030 | | | | 1035 | | | | 1040 | | | | | | | |
| Asn | Val | Asn | Gly | Gln | Ile | Arg | Pro | Ile | Lys | Val | Arg | Asp | Arg | Ser | Val | | | | |
| | | | 1045 | | | | | 1050 | | | | 1055 | | | | | | | |
| Glu | Ser | Val | Thr | Ala | Thr | Ala | Glu | Lys | Ala | Asp | Ala | Thr | Asn | Lys | Gly | | | | |
| | | 1060 | | | | | 1065 | | | | 1070 | | | | | | | | |
| His | Val | Ala | Ala | Pro | Phe | Ala | Gly | Val | Val | Thr | Val | Thr | Val | Ala | Glu | | | | |
| | 1075 | | | | | 1080 | | | | | 1085 | | | | | | | | |
| Gly | Asp | Glu | Ile | Lys | Ala | Gly | Asp | Ala | Val | Ala | Ile | Ile | Glu | Ala | Met | | | | |
| | 1090 | | | | 1095 | | | | | 1100 | | | | | | | | | |
| Lys | Met | Glu | Ala | Thr | Ile | Thr | Ala | Pro | Val | Asp | Gly | Val | Ile | Asp | Arg | | | | |
| 105 | | | | 1110 | | | | 1115 | | | | 1120 | | | | | | | |
| Val | Val | Val | Pro | Ala | Ala | Thr | Lys | Val | Glu | Gly | Gly | Asp | Leu | Ile | Val | | | | |
| | | | 1125 | | | | | 1130 | | | | 1135 | | | | | | | |
| Val | Val | Ser | | | | | | | | | | | | | | | | | |

<210> 25

<211> 3306

<212> DNA

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<220>

<221> CDS

<222> (64)..(2820)

<400> 25

```

gatcaaccta agccaggaga atccggcggg cggttttctac ttctacagga gctgaacccc 60
acc gtg aat gaa ctt ctc cgt gac gat atc cgt tat ctc ggc cgg atc 108
    Val Asn Glu Leu Leu Arg Asp Asp Ile Arg Tyr Leu Gly Arg Ile
        1             5             10             15
ctg ggc gag gtg atc tcc gag cag gag ggc cac cat gtc ttc gaa ctg 156
Leu Gly Glu Val Ile Ser Glu Gln Glu Gly His His Val Phe Glu Leu
        20             25             30
gtt gaa cgc gcc cgc cgg acc tcc ttc gac atc gcc aag gga cgc gcg 204
Val Glu Arg Ala Arg Arg Thr Ser Phe Asp Ile Ala Lys Gly Arg Ala

```



THIS PAGE BLANK (USPTO)

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| | | | 35 | | | | 40 | | | | 45 | | | | | | | |
| gag | atg | gac | agt | ctg | gtg | gag | gtg | ttc | gct | ggc | atc | gac | ccg | gag | gac | 252 | | |
| Glu | Met | Asp | Ser | Leu | Val | Glu | Val | Phe | Ala | Gly | Ile | Asp | Pro | Glu | Asp | | | |
| | | | 50 | | | | 55 | | | | 60 | | | | | | | |
| gcc | acg | ccc | gtg | gcc | cga | gcc | ttc | acc | cat | ttc | gcc | ctg | ttg | gcc | aac | 300 | | |
| Ala | Thr | Pro | Val | Ala | Arg | Ala | Phe | Thr | His | Phe | Ala | Leu | Leu | Ala | Asn | | | |
| | | | 65 | | | | 70 | | | | 75 | | | | | | | |
| ctc | gcg | gag | gat | ttg | cat | gac | gca | gcc | cag | cgg | gaa | cag | gcc | ctg | aac | 348 | | |
| Leu | Ala | Glu | Asp | Leu | His | Asp | Ala | Ala | Gln | Arg | Glu | Gln | Ala | Leu | Asn | | | |
| | | | 80 | | | | 85 | | | | 90 | | | | 95 | | | |
| tcg | ggt | gag | ccc | gcg | ccg | gac | agc | acc | ctc | gag | gcc | acc | tgg | gtg | aaa | 396 | | |
| Ser | Gly | Glu | Pro | Ala | Pro | Asp | Ser | Thr | Leu | Glu | Ala | Thr | Trp | Val | Lys | | | |
| | | | 100 | | | | 105 | | | | 110 | | | | | | | |
| ctg | gat | gat | gcc | ggg | gtg | ggc | agc | ggt | gag | gtc | gcc | gcg | gtg | atc | cgc | 444 | | |
| Leu | Asp | Asp | Ala | Gly | Val | Gly | Ser | Gly | Glu | Val | Ala | Ala | Val | Ile | Arg | | | |
| | | | 115 | | | | 120 | | | | 125 | | | | | | | |
| aat | gcg | ctc | gtc | gcc | ccg | gtg | ctc | acc | gcg | cac | ccg | acg | gaa | acc | cga | 492 | | |
| Asn | Ala | Leu | Val | Ala | Pro | Val | Leu | Thr | Ala | His | Pro | Thr | Glu | Thr | Arg | | | |
| | | | 130 | | | | 135 | | | | 140 | | | | | | | |
| cgt | cgt | acc | gtg | ttc | gac | gcg | cag | aag | cac | atc | acc | gcc | ctg | atg | gag | 540 | | |
| Arg | Arg | Thr | Val | Phe | Asp | Ala | Gln | Lys | His | Ile | Thr | Ala | Leu | Met | Glu | | | |
| | | | 145 | | | | 150 | | | | 155 | | | | | | | |
| gaa | cgc | cac | ctc | ctc | ctg | gcg | ctg | ccc | acg | cat | gcc | cgg | acc | cag | tcc | 588 | | |
| Glu | Arg | His | Leu | Leu | Leu | Ala | Leu | Pro | Thr | His | Ala | Arg | Thr | Gln | Ser | | | |
| | | | 160 | | | | 165 | | | | 170 | | | | 175 | | | |
| aag | ctg | gat | gac | atc | gag | cgc | aac | atc | cgg | cga | cgg | atc | acg | atc | ctg | 636 | | |
| Lys | Leu | Asp | Asp | Ile | Glu | Arg | Asn | Ile | Arg | Arg | Arg | Ile | Thr | Ile | Leu | | | |
| | | | 180 | | | | 185 | | | | 190 | | | | | | | |
| tgg | cag | acg | gcc | ctc | atc | cgt | gtg | gcc | cgt | ccc | cgc | atc | gag | gat | gag | 684 | | |
| Trp | Gln | Thr | Ala | Leu | Ile | Arg | Val | Ala | Arg | Pro | Arg | Ile | Glu | Asp | Glu | | | |
| | | | 195 | | | | 200 | | | | 205 | | | | | | | |
| gtc | gag | gtt | gga | ctg | cgc | tac | tac | aag | ctc | agc | ctg | ttg | gcc | gag | atc | 732 | | |
| Val | Glu | Val | Gly | Leu | Arg | Tyr | Tyr | Lys | Leu | Ser | Leu | Leu | Ala | Glu | Ile | | | |
| | | | 210 | | | | 215 | | | | 220 | | | | | | | |
| ccc | cgc | atc | aat | cat | gat | gtg | acc | gtg | gaa | ctg | gcc | cgg | cgt | ttc | ggc | 780 | | |
| Pro | Arg | Ile | Asn | His | Asp | Val | Thr | Val | Glu | Leu | Ala | Arg | Arg | Phe | Gly | | | |
| | | | 225 | | | | 230 | | | | 235 | | | | | | | |
| ggg | gat | atc | ccc | acc | acg | gcg | atg | gtc | agg | ccg | gga | tcc | tgg | atc | ggc | 828 | | |
| Gly | Asp | Ile | Pro | Thr | Thr | Ala | Met | Val | Arg | Pro | Gly | Ser | Trp | Ile | Gly | | | |
| | | | 240 | | | | 245 | | | | 250 | | | | 255 | | | |
| ggg | gac | cat | gat | ggc | aac | ccc | ttc | gtc | acc | gcg | gag | act | gtc | acc | tac | 876 | | |
| Gly | Asp | His | Asp | Gly | Asn | Pro | Phe | Val | Thr | Ala | Glu | Thr | Val | Thr | Tyr | | | |
| | | | 260 | | | | 265 | | | | 270 | | | | | | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

54/123

| | |
|---|------|
| gcc acc cat cgg gcc gcg gag acc gtg ctc aag tac tac gtc aag caa | 924 |
| Ala Thr His Arg Ala Ala Glu Thr Val Leu Lys Tyr Tyr Val Lys Gln | |
| 275 280 285 | |
| ctg cac gcc ctg gaa cac gaa ctc agt ctc tcc gac cgg atg aac gtc | 972 |
| Leu His Ala Leu Glu His Glu Leu Ser Leu Ser Asp Arg Met Asn Val | |
| 290 295 300 | |
| atc agc gat gag ctg cgt gtg ctt gcc gat gcc ggc cag aat gac atg | 1020 |
| Ile Ser Asp Glu Leu Arg Val Leu Ala Asp Ala Gly Gln Asn Asp Met | |
| 305 310 315 | |
| ccc agc cgg gtt gat gaa ccc tac cgg cgg gcc atc cac ggc atg cgt | 1068 |
| Pro Ser Arg Val Asp Glu Pro Tyr Arg Arg Ala Ile His Gly Met Arg | |
| 320 325 330 335 | |
| ggc cgg atg ctg gcc acc acg gcc gcc ctg atc ggt gag gag gcg gtc | 1116 |
| Gly Arg Met Leu Ala Thr Thr Ala Ala Leu Ile Gly Glu Glu Ala Val | |
| 340 345 350 | |
| gag ggc acc tgg ttc aag acc ttc acg ccc tat acc gat acc cac gag | 1164 |
| Glu Gly Thr Trp Phe Lys Thr Phe Thr Pro Tyr Thr Asp Thr His Glu | |
| 355 360 365 | |
| ttc aaa cgc gac ctc gat atc gtg gat ggt tcc ctg aga atg tcc cgg | 1212 |
| Phe Lys Arg Asp Leu Asp Ile Val Asp Gly Ser Leu Arg Met Ser Arg | |
| 370 375 380 | |
| gat gac atc atc gcc gat gac cgt ctg gcc atg ctg cgc tcg gcc ctg | 1260 |
| Asp Asp Ile Ile Ala Asp Asp Arg Leu Ala Met Leu Arg Ser Ala Leu | |
| 385 390 395 | |
| gac agc ttc ggg ttc aac ctc tac tcc ctg gat ctg cgc cag aat tcc | 1308 |
| Asp Ser Phe Gly Phe Asn Leu Tyr Ser Leu Asp Leu Arg Gln Asn Ser | |
| 400 405 410 415 | |
| gac ggt ttc gag gat gtc ctc acc gaa ttg ttc gcc acc gcc cag acc | 1356 |
| Asp Gly Phe Glu Asp Val Leu Thr Glu Leu Phe Ala Thr Ala Gln Thr | |
| 420 425 430 | |
| gag aag aac tac cgc ggg ttg acg gag gcg gag aag ctg gac ctg ctg | 1404 |
| Glu Lys Asn Tyr Arg Gly Leu Thr Glu Ala Glu Lys Leu Asp Leu Leu | |
| 435 440 445 | |
| atc cgc gaa ctg agc aca ccc cgc ccg ctc atc ccg cac ggg gac ccg | 1452 |
| Ile Arg Glu Leu Ser Thr Pro Arg Pro Leu Ile Pro His Gly Asp Pro | |
| 450 455 460 | |
| gac tac tcc gag gcc acc aac cgt gaa ctg ggg att ttt tcg aag gcc | 1500 |
| Asp Tyr Ser Glu Ala Thr Asn Arg Glu Leu Gly Ile Phe Ser Lys Ala | |
| 465 470 475 | |
| gcg gag gcc gtg cgt aaa ttc ggt cct ctc atg gtg ccg cac tgc atc | 1548 |
| Ala Glu Ala Val Arg Lys Phe Gly Pro Leu Met Val Pro His Cys Ile | |
| 480 485 490 495 | |
| atc tcc atg gcc tct tcc gtc acg gac atc ctc gaa ccg atg gtg ctg | 1596 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

55/123

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| Ile | Ser | Met | Ala | Ser | Ser | Val | Thr | Asp | Ile | Leu | Glu | Pro | Met | Val | Leu | |
| | | | | 500 | | | | | 505 | | | | | 510 | | |
| ctc | aag | gag | ttc | ggt | ctg | atc | cgg | gcc | aac | ggg | aag | aac | ccg | acg | ggc | 1644 |
| Leu | Lys | Glu | Phe | Gly | Leu | Ile | Arg | Ala | Asn | Gly | Lys | Asn | Pro | Thr | Gly | |
| | | | 515 | | | | | 520 | | | | | 525 | | | |
| agc | gtc | gac | gtg | atc | ccg | ctg | ttc | gag | acg | atc | gat | gac | ctc | cag | cgt | 1692 |
| Ser | Val | Asp | Val | Ile | Pro | Leu | Phe | Glu | Thr | Ile | Asp | Asp | Leu | Gln | Arg | |
| | | 530 | | | | | 535 | | | | | 540 | | | | |
| ggc | gcg | ggc | atc | ctg | gag | gaa | ttg | tgg | gac | atc | gac | ctc | tac | cgc | aat | 1740 |
| Gly | Ala | Gly | Ile | Leu | Glu | Glu | Leu | Trp | Asp | Ile | Asp | Leu | Tyr | Arg | Asn | |
| | 545 | | | | 550 | | | | | | 555 | | | | | |
| tac | ctt | gag | cag | cgg | gac | aac | gtc | cag | gag | gtc | atg | ctg | ggg | tat | tcc | 1788 |
| Tyr | Leu | Glu | Gln | Arg | Asp | Asn | Val | Gln | Glu | Val | Met | Leu | Gly | Tyr | Ser | |
| 560 | | | | 565 | | | | | | 570 | | | | | 575 | |
| gac | tcc | aac | aag | gac | ggc | ggg | tac | ttc | gcc | gcc | aac | tgg | gcg | ctt | tac | 1836 |
| Asp | Ser | Asn | Lys | Asp | Gly | Gly | Tyr | Phe | Ala | Ala | Asn | Trp | Ala | Leu | Tyr | |
| | | | 580 | | | | | 585 | | | | | 590 | | | |
| gac | gcg | gag | tta | cgc | ctg | gtc | gaa | cta | tgc | cgg | ggc | cgt | aat | gtc | aag | 1884 |
| Asp | Ala | Glu | Leu | Arg | Leu | Val | Glu | Leu | Cys | Arg | Gly | Arg | Asn | Val | Lys | |
| | | | 595 | | | | 600 | | | | | 605 | | | | |
| ctc | cgt | ctc | ttc | cac | ggt | cgt | ggt | ggc | acg | gtg | ggt | cgt | ggc | ggt | ggc | 1932 |
| Leu | Arg | Leu | Phe | His | Gly | Arg | Gly | Gly | Thr | Val | Gly | Arg | Gly | Gly | Gly | |
| | 610 | | | | | | 615 | | | | | 620 | | | | |
| ccc | tcc | tat | gat | gcg | atc | ctg | gcc | cag | ccc | aag | ggc | gcg | gtc | cgg | ggt | 1980 |
| Pro | Ser | Tyr | Asp | Ala | Ile | Leu | Ala | Gln | Pro | Lys | Gly | Ala | Val | Arg | Gly | |
| | 625 | | | | | 630 | | | | | 635 | | | | | |
| gcg | gtg | cgg | gtg | act | gaa | cag | ggc | gag | atc | atc | tcc | gcg | aag | tac | ggt | 2028 |
| Ala | Val | Arg | Val | Thr | Glu | Gln | Gly | Glu | Ile | Ile | Ser | Ala | Lys | Tyr | Gly | |
| 640 | | | | | 645 | | | | | 650 | | | | | 655 | |
| aac | ccg | gat | acg | gca | cgc | cgc | aac | ctt | gag | gcc | ctg | gtg | tcc | gcg | acg | 2076 |
| Asn | Pro | Asp | Thr | Ala | Arg | Arg | Asn | Leu | Glu | Ala | Leu | Val | Ser | Ala | Thr | |
| | | | 660 | | | | | 665 | | | | | 670 | | | |
| ctg | gag | gca | tcg | ctt | ctg | gat | gat | gtg | gaa | ctg | ccc | aat | cgg | gaa | cgc | 2124 |
| Leu | Glu | Ala | Ser | Leu | Leu | Asp | Asp | Val | Glu | Leu | Pro | Asn | Arg | Glu | Arg | |
| | | | 675 | | | | | 680 | | | | | 685 | | | |
| gcg | cac | cag | atc | atg | ggg | gag | atc | tcg | gag | ttg | agc | ttc | cgc | agg | tac | 2172 |
| Ala | His | Gln | Ile | Met | Gly | Glu | Ile | Ser | Glu | Leu | Ser | Phe | Arg | Arg | Tyr | |
| | | 690 | | | | | 695 | | | | | 700 | | | | |
| tca | tca | ctg | gtc | cat | gag | gat | ccc | gga | ttc | atc | cag | tac | ttc | acc | cag | 2220 |
| Ser | Ser | Leu | Val | His | Glu | Asp | Pro | Gly | Phe | Ile | Gln | Tyr | Phe | Thr | Gln | |
| | 705 | | | | | 710 | | | | | 715 | | | | | |
| tcc | acc | ccc | ctg | cag | gag | atc | gga | tcc | ctc | aac | atc | ggt | tcc | cga | ccc | 2268 |
| Ser | Thr | Pro | Leu | Gln | Glu | Ile | Gly | Ser | Leu | Asn | Ile | Gly | Ser | Arg | Pro | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

56/123

| | | | | |
|--|-----|-----|-----|------|
| 720 | 725 | 730 | 735 | |
| tcc tca cgt aaa cag acc aac acg gtg gag gat ctg cgt gcc atc ccg | | | | 2316 |
| Ser Ser Arg Lys Gln Thr Asn Thr Val Glu Asp Leu Arg Ala Ile Pro | | | | |
| | 740 | 745 | 750 | |
| tgg gtg ctc agc tgg tcc cag tcc cgt gtc atg ctg ccg ggc tgg ttc | | | | 2364 |
| Trp Val Leu Ser Trp Ser Gln Ser Arg Val Met Leu Pro Gly Trp Phe | | | | |
| | 755 | 760 | 765 | |
| ggt gtg ggt acc gca ctg cgt gag tgg atc ggt gag ggg gag ggg gct | | | | 2412 |
| Gly Val Gly Thr Ala Leu Arg Glu Trp Ile Gly Glu Gly Glu Gly Ala | | | | |
| | 770 | 775 | 780 | |
| gcg gag cgc atc gcg gag ctg cag gaa ctc aac cgg tgc tgg ccg ttc | | | | 2460 |
| Ala Glu Arg Ile Ala Glu Leu Gln Glu Leu Asn Arg Cys Trp Pro Phe | | | | |
| | 785 | 790 | 795 | |
| ttc acc tcg gtg ctg gac aac atg gcc cag gtg atg agc aag gcg gaa | | | | 2508 |
| Phe Thr Ser Val Leu Asp Asn Met Ala Gln Val Met Ser Lys Ala Glu | | | | |
| 800 | 805 | 810 | 815 | |
| ctg cgc ctg gcc agg ttg tac gcc gat ctc atc ccg gat cgc gag gtg | | | | 2556 |
| Leu Arg Leu Ala Arg Leu Tyr Ala Asp Leu Ile Pro Asp Arg Glu Val | | | | |
| | 820 | 825 | 830 | |
| gcg gac cgg atc tat gag acc atc ttc ggg gag tat ttc ctg acc aag | | | | 2604 |
| Ala Asp Arg Ile Tyr Glu Thr Ile Phe Gly Glu Tyr Phe Leu Thr Lys | | | | |
| | 835 | 840 | 845 | |
| gag atg ttc tgc acc atc acc ggt tcc cag gac ctg ctc gat gac aac | | | | 2652 |
| Glu Met Phe Cys Thr Ile Thr Gly Ser Gln Asp Leu Leu Asp Asp Asn | | | | |
| | 850 | 855 | 860 | |
| ccg gcg ctg gcg cga tcg gtg cgc agt cgg ttc ccg tac ctg ctg ccg | | | | 2700 |
| Pro Ala Leu Ala Arg Ser Val Arg Ser Arg Phe Pro Tyr Leu Leu Pro | | | | |
| | 865 | 870 | 875 | |
| ctc aat gtc atc cag gtg gag atg atg cgc cgg tac cgg tcc ggt gat | | | | 2748 |
| Leu Asn Val Ile Gln Val Glu Met Met Arg Arg Tyr Arg Ser Gly Asp | | | | |
| 880 | 885 | 890 | 895 | |
| gag ggc acg gct gtc cca cgt aat atc cgc ctg acc atg aat gga ttg | | | | 2796 |
| Glu Gly Thr Ala Val Pro Arg Asn Ile Arg Leu Thr Met Asn Gly Leu | | | | |
| | 900 | 905 | 910 | |
| tcc acg gcc ctg cgc aac tcg ggt tagggcgcca gacgccccgg gaaccgcac | | | | 2850 |
| Ser Thr Ala Leu Arg Asn Ser Gly | | | | |
| | 915 | | | |
| cctgtgtata ctgtctaaag ttgccgggtg tcatccgggc gtgatggata gacaacttaa | | | | 2910 |
| cggcaaagga ttctcccac atggcaactga cgcttcaaat cgtcctcggt ctcgccagcg | | | | 2970 |
| tgtcatgac ggtcttcgtc ctgctgcaca agggttaagg cggaggtctg tcaagcctct | | | | 3030 |
| tcggtggtgg cgtccagtcc aacctctccg gttccacggt ggtggagaag aacctggacc | | | | 3090 |
| gcgtcaccat cctgaccgca gtcattctggt tgatctgcat tgctcgcctc aacctcctcc | | | | 3150 |
| aggcgtactc ctagcacctg atctttcaag gcctgccctt cggggcaggc cttttttgca | | | | 3210 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

ttctccaggt gatgtccatc acccaccggt tttaaactat tgaccgatat aaacacctgc 3270
actaggttat ctgttatgca atagaaaata gtgcat 3306

<210> 26
<211> 919
<212> PRT
<213> Corynebacterium thermoaminogenes

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| <400> 26 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Val | Asn | Glu | Leu | Leu | Arg | Asp | Asp | Ile | Arg | Tyr | Leu | Gly | Arg | Ile | Leu |
| 1 | | | | 5 | | | | 10 | | | | | | 15 | |
| Gly | Glu | Val | Ile | Ser | Glu | Gln | Glu | Gly | His | His | Val | Phe | Glu | Leu | Val |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Glu | Arg | Ala | Arg | Arg | Thr | Ser | Phe | Asp | Ile | Ala | Lys | Gly | Arg | Ala | Glu |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Met | Asp | Ser | Leu | Val | Glu | Val | Phe | Ala | Gly | Ile | Asp | Pro | Glu | Asp | Ala |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Thr | Pro | Val | Ala | Arg | Ala | Phe | Thr | His | Phe | Ala | Leu | Leu | Ala | Asn | Leu |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |
| Ala | Glu | Asp | Leu | His | Asp | Ala | Ala | Gln | Arg | Glu | Gln | Ala | Leu | Asn | Ser |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Gly | Glu | Pro | Ala | Pro | Asp | Ser | Thr | Leu | Glu | Ala | Thr | Trp | Val | Lys | Leu |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Asp | Asp | Ala | Gly | Val | Gly | Ser | Gly | Glu | Val | Ala | Ala | Val | Ile | Arg | Asn |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Ala | Leu | Val | Ala | Pro | Val | Leu | Thr | Ala | His | Pro | Thr | Glu | Thr | Arg | Arg |
| | | 130 | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Arg | Thr | Val | Phe | Asp | Ala | Gln | Lys | His | Ile | Thr | Ala | Leu | Met | Glu | Glu |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |
| Arg | His | Leu | Leu | Leu | Ala | Leu | Pro | Thr | His | Ala | Arg | Thr | Gln | Ser | Lys |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| Leu | Asp | Asp | Ile | Glu | Arg | Asn | Ile | Arg | Arg | Arg | Ile | Thr | Ile | Leu | Trp |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Gln | Thr | Ala | Leu | Ile | Arg | Val | Ala | Arg | Pro | Arg | Ile | Glu | Asp | Glu | Val |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| Glu | Val | Gly | Leu | Arg | Tyr | Tyr | Lys | Leu | Ser | Leu | Leu | Ala | Glu | Ile | Pro |
| | | 210 | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Arg | Ile | Asn | His | Asp | Val | Thr | Val | Glu | Leu | Ala | Arg | Arg | Phe | Gly | Gly |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 |
| Asp | Ile | Pro | Thr | Thr | Ala | Met | Val | Arg | Pro | Gly | Ser | Trp | Ile | Gly | Gly |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | |
| Asp | His | Asp | Gly | Asn | Pro | Phe | Val | Thr | Ala | Glu | Thr | Val | Thr | Tyr | Ala |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

58/123

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Thr | His | Arg | Ala | Ala | Glu | Thr | Val | Leu | Lys | Tyr | Tyr | Val | Lys | Gln | Leu |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | |
| His | Ala | Leu | Glu | His | Glu | Leu | Ser | Leu | Ser | Asp | Arg | Met | Asn | Val | Ile |
| | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | |
| Ser | Asp | Glu | Leu | Arg | Val | Leu | Ala | Asp | Ala | Gly | Gln | Asn | Asp | Met | Pro |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 |
| Ser | Arg | Val | Asp | Glu | Pro | Tyr | Arg | Arg | Ala | Ile | His | Gly | Met | Arg | Gly |
| | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | |
| Arg | Met | Leu | Ala | Thr | Thr | Ala | Ala | Leu | Ile | Gly | Glu | Glu | Ala | Val | Glu |
| | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | |
| Gly | Thr | Trp | Phe | Lys | Thr | Phe | Thr | Pro | Tyr | Thr | Asp | Thr | His | Glu | Phe |
| | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | |
| Lys | Arg | Asp | Leu | Asp | Ile | Val | Asp | Gly | Ser | Leu | Arg | Met | Ser | Arg | Asp |
| | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | |
| Asp | Ile | Ile | Ala | Asp | Asp | Arg | Leu | Ala | Met | Leu | Arg | Ser | Ala | Leu | Asp |
| 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 |
| Ser | Phe | Gly | Phe | Asn | Leu | Tyr | Ser | Leu | Asp | Leu | Arg | Gln | Asn | Ser | Asp |
| | | | | 405 | | | | | 410 | | | | | 415 | |
| Gly | Phe | Glu | Asp | Val | Leu | Thr | Glu | Leu | Phe | Ala | Thr | Ala | Gln | Thr | Glu |
| | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | |
| Lys | Asn | Tyr | Arg | Gly | Leu | Thr | Glu | Ala | Glu | Lys | Leu | Asp | Leu | Leu | Ile |
| | | 435 | | | | | 440 | | | | | 445 | | | |
| Arg | Glu | Leu | Ser | Thr | Pro | Arg | Pro | Leu | Ile | Pro | His | Gly | Asp | Pro | Asp |
| | 450 | | | | | 455 | | | | | 460 | | | | |
| Tyr | Ser | Glu | Ala | Thr | Asn | Arg | Glu | Leu | Gly | Ile | Phe | Ser | Lys | Ala | Ala |
| 465 | | | | | 470 | | | | | 475 | | | | | 480 |
| Glu | Ala | Val | Arg | Lys | Phe | Gly | Pro | Leu | Met | Val | Pro | His | Cys | Ile | Ile |
| | | | | 485 | | | | | 490 | | | | | 495 | |
| Ser | Met | Ala | Ser | Ser | Val | Thr | Asp | Ile | Leu | Glu | Pro | Met | Val | Leu | Leu |
| | | | 500 | | | | | 505 | | | | | 510 | | |
| Lys | Glu | Phe | Gly | Leu | Ile | Arg | Ala | Asn | Gly | Lys | Asn | Pro | Thr | Gly | Ser |
| | | 515 | | | | | 520 | | | | | 525 | | | |
| Val | Asp | Val | Ile | Pro | Leu | Phe | Glu | Thr | Ile | Asp | Asp | Leu | Gln | Arg | Gly |
| | 530 | | | | | 535 | | | | | 540 | | | | |
| Ala | Gly | Ile | Leu | Glu | Glu | Leu | Trp | Asp | Ile | Asp | Leu | Tyr | Arg | Asn | Tyr |
| 545 | | | | | 550 | | | | | 555 | | | | | 560 |
| Leu | Glu | Gln | Arg | Asp | Asn | Val | Gln | Glu | Val | Met | Leu | Gly | Tyr | Ser | Asp |
| | | | | 565 | | | | | 570 | | | | | 575 | |
| Ser | Asn | Lys | Asp | Gly | Gly | Tyr | Phe | Ala | Ala | Asn | Trp | Ala | Leu | Tyr | Asp |
| | | | 580 | | | | | 585 | | | | | 590 | | |
| Ala | Glu | Leu | Arg | Leu | Val | Glu | Leu | Cys | Arg | Gly | Arg | Asn | Val | Lys | Leu |
| | | 595 | | | | | 600 | | | | | 605 | | | |
| Arg | Leu | Phe | His | Gly | Arg | Gly | Gly | Thr | Val | Gly | Arg | Gly | Gly | Gly | Pro |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

59/123

| | | |
|---------------------|-------------------------|-------------------------|
| 610 | 615 | 620 |
| Ser Tyr Asp Ala Ile | Leu Ala Gln Pro Lys Gly | Ala Val Arg Gly Ala |
| 625 | 630 | 635 |
| Val Arg Val Thr Glu | Gln Gly Glu Ile Ile | Ser Ala Lys Tyr Gly Asn |
| 645 | 650 | 655 |
| Pro Asp Thr Ala Arg | Arg Asn Leu Glu Ala | Leu Val Ser Ala Thr Leu |
| 660 | 665 | 670 |
| Glu Ala Ser Leu Leu | Asp Asp Val Glu Leu | Pro Asn Arg Glu Arg Ala |
| 675 | 680 | 685 |
| His Gln Ile Met Gly | Glu Ile Ser Glu Leu | Ser Phe Arg Arg Tyr Ser |
| 690 | 695 | 700 |
| Ser Leu Val His Glu | Asp Pro Gly Phe Ile | Gln Tyr Phe Thr Gln Ser |
| 705 | 710 | 715 |
| Thr Pro Leu Gln Glu | Ile Gly Ser Leu Asn | Ile Gly Ser Arg Pro Ser |
| 725 | 730 | 735 |
| Ser Arg Lys Gln Thr | Asn Thr Val Glu Asp | Leu Arg Ala Ile Pro Trp |
| 740 | 745 | 750 |
| Val Leu Ser Trp Ser | Gln Ser Arg Val Met | Leu Pro Gly Trp Phe Gly |
| 755 | 760 | 765 |
| Val Gly Thr Ala Leu | Arg Glu Trp Ile Gly | Glu Gly Glu Gly Ala Ala |
| 770 | 775 | 780 |
| Glu Arg Ile Ala Glu | Leu Gln Glu Leu Asn | Arg Cys Trp Pro Phe Phe |
| 785 | 790 | 795 |
| Thr Ser Val Leu Asp | Asn Met Ala Gln Val | Met Ser Lys Ala Glu Leu |
| 805 | 810 | 815 |
| Arg Leu Ala Arg Leu | Tyr Ala Asp Leu Ile | Pro Asp Arg Glu Val Ala |
| 820 | 825 | 830 |
| Asp Arg Ile Tyr Glu | Thr Ile Phe Gly Glu | Tyr Phe Leu Thr Lys Glu |
| 835 | 840 | 845 |
| Met Phe Cys Thr Ile | Thr Gly Ser Gln Asp | Leu Leu Asp Asp Asn Pro |
| 850 | 855 | 860 |
| Ala Leu Ala Arg Ser | Val Arg Ser Arg Phe | Pro Tyr Leu Leu Pro Leu |
| 865 | 870 | 875 |
| Asn Val Ile Gln Val | Glu Met Met Arg Arg | Tyr Arg Ser Gly Asp Glu |
| 885 | 890 | 895 |
| Gly Thr Ala Val Pro | Arg Asn Ile Arg Leu | Thr Met Asn Gly Leu Ser |
| 900 | 905 | 910 |
| Thr Ala Leu Arg Asn | Ser Gly | |
| 915 | | |

<210> 27

<211> 3907

<212> DNA

THIS PAGE BLANK (USPTO)

60/123

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (686)..(3388)

<400> 27

```

attacttcag ctgactcagc aacattcgta ttaggtatgc aaacaacatt tggttcgtta 60
aatccaagta gatatggtaa agtaacttgg ggtattgctc aagcacttat cgcctttgta 120
ttattattag ctggtggcgg agatggaact aaagctctca acgcaattca gagtgccgct 180
attattagtg cgtttccatt ctctttgtc gtcataataa tgatgatcag tttctacaaa 240
gatgctaata aagaacgtaa attcttagga ttaacattaa cgcctaataa acacagatta 300
gaagaatacg ttaaatatca acaagaggat tacgaatctg atatittaga aaaacgtgaa 360
tctagacgta atcgtgaaag agaagaataa ttgaatgaaa tatctactat aatgggtgggt 420
ttaaagctat caacaatttt gttgatagct atttttatgt ttcaaacata taaatattat 480
ttacttgcca ttgataacca ttctcaatta ataaaaataa cttatagtac aaatgcgtta 540
taataagttt tacttatact acctgattaa aaatgcgaaa tgaaaaatga cccctttata 600
tacctataca gttgtgttcg aaaacatata ataatacaat ttaactaagg catataaata 660
tatagaaatt caagggggat atcaa atg gct tct aat ttt aaa gaa aca gcg 712
                               Met Ala Ser Asn Phe Lys Glu Thr Ala
                               1                               5

aag aaa caa ttt gat tta aat ggc caa tca tac acg tac tat gat tta 760
Lys Lys Gln Phe Asp Leu Asn Gly Gln Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asp Leu
 10                               15                               20                               25

aaa tca tta gaa gaa caa ggt tta act aaa att tca aag tta cct tat 808
Lys Ser Leu Glu Glu Gln Gly Leu Thr Lys Ile Ser Lys Leu Pro Tyr
                               30                               35                               40

tca atc cgt gta tta cta gaa tca gtg tta cgt cag gaa gat gat ttt 856
Ser Ile Arg Val Leu Leu Glu Ser Val Leu Arg Gln Glu Asp Asp Phe
                               45                               50                               55

gta att act gat gat cac att aaa caa tta gca gaa ttt ggc aaa aaa 904
Val Ile Thr Asp Asp His Ile Lys Gln Leu Ala Glu Phe Gly Lys Lys
                               60                               65                               70

ggg aac gaa ggt gaa gta cct ttc aaa cca tct cga gtt att tta caa 952
Gly Asn Glu Gly Glu Val Pro Phe Lys Pro Ser Arg Val Ile Leu Gln
                               75                               80                               85

gac ttc act ggt gta cca gca gta gtt gac tta gcg tct tta cgt aaa 1000
Asp Phe Thr Gly Val Pro Ala Val Val Asp Leu Ala Ser Leu Arg Lys
                               90                               95                               100                               105

gca atg aat gat gtt ggt ggg gat att aat aaa att aac cct gaa gta 1048
Ala Met Asn Asp Val Gly Gly Asp Ile Asn Lys Ile Asn Pro Glu Val
                               110                               115                               120

cca gtt gac tta gtt att gac cac tct gta caa gta gat agt tat gct 1096

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

61/123

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|--|
| Pro | Val | Asp | Leu | Val | Ile | Asp | His | Ser | Val | Gln | Val | Asp | Ser | Tyr | Ala | | |
| | | | 125 | | | | | 130 | | | | | 135 | | | | |
| aat | cca | gat | gca | tta | caa | cgt | aac | atg | aaa | tta | gaa | ttt | gaa | cgt | aac | 1144 | |
| Asn | Pro | Asp | Ala | Leu | Gln | Arg | Asn | Met | Lys | Leu | Glu | Phe | Glu | Arg | Asn | | |
| | | | 140 | | | | 145 | | | | | 150 | | | | | |
| tat | gaa | cgt | tac | caa | ttc | tta | aac | tgg | gca | aca | aaa | gca | ttt | gat | aac | 1192 | |
| Tyr | Glu | Arg | Tyr | Gln | Phe | Leu | Asn | Trp | Ala | Thr | Lys | Ala | Phe | Asp | Asn | | |
| | 155 | | | | | 160 | | | | 165 | | | | | | | |
| tat | aat | gca | gta | cca | cct | gct | aca | ggt | att | gtc | cac | caa | gta | aac | tta | 1240 | |
| Tyr | Asn | Ala | Val | Pro | Pro | Ala | Thr | Gly | Ile | Val | His | Gln | Val | Asn | Leu | | |
| 170 | | | | | 175 | | | | | 180 | | | | | 185 | | |
| gaa | tac | tta | gcg | aat | gtt | gta | cat | gtt | cgt | gac | gtt | gac | gga | gaa | caa | 1288 | |
| Glu | Tyr | Leu | Ala | Asn | Val | Val | His | Val | Arg | Asp | Val | Asp | Gly | Glu | Gln | | |
| | | | 190 | | | | | 195 | | | | | 200 | | | | |
| act | gct | ttc | cca | gat | aca | tta | gtt | ggt | act | gac | tca | cat | act | aca | atg | 1336 | |
| Thr | Ala | Phe | Pro | Asp | Thr | Leu | Val | Gly | Thr | Asp | Ser | His | Thr | Thr | Met | | |
| | | | 205 | | | | | 210 | | | | | 215 | | | | |
| att | aac | ggt | att | ggt | gta | tta | ggt | tgg | ggt | gtc | ggc | ggt | atc | gaa | gct | 1384 | |
| Ile | Asn | Gly | Ile | Gly | Val | Leu | Gly | Trp | Gly | Val | Gly | Gly | Ile | Glu | Ala | | |
| | 220 | | | | | 225 | | | | | 230 | | | | | | |
| gaa | gca | ggt | atg | tta | gga | caa | cca | tca | tac | ttc | cca | att | cca | gaa | gtt | 1432 | |
| Glu | Ala | Gly | Met | Leu | Gly | Gln | Pro | Ser | Tyr | Phe | Pro | Ile | Pro | Glu | Val | | |
| | 235 | | | | 240 | | | | | 245 | | | | | | | |
| att | ggt | gtt | aaa | tta | agt | aat | gaa | tta | cca | caa | ggt | tca | aca | gca | act | 1480 | |
| Ile | Gly | Val | Lys | Leu | Ser | Asn | Glu | Leu | Pro | Gln | Gly | Ser | Thr | Ala | Thr | | |
| 250 | | | | | 255 | | | | | 260 | | | | | 265 | | |
| gac | tta | gca | tta | cgt | gta | act | gaa | gag | tta | cgt | aaa | cgt | ggt | gta | gta | 1528 | |
| Asp | Leu | Ala | Leu | Arg | Val | Thr | Glu | Glu | Leu | Arg | Lys | Arg | Gly | Val | Val | | |
| | | | 270 | | | | | 275 | | | | | 280 | | | | |
| ggt | aaa | ttc | gtt | gag | ttc | ttt | ggt | cct | ggt | gta | aca | aac | tta | cca | tta | 1576 | |
| Gly | Lys | Phe | Val | Glu | Phe | Phe | Gly | Pro | Gly | Val | Thr | Asn | Leu | Pro | Leu | | |
| | | 285 | | | | | 290 | | | | | 295 | | | | | |
| gct | gac | cgt | gca | aca | att | gcg | aac | atg | gcg | cct | gaa | tat | ggt | gca | act | 1624 | |
| Ala | Asp | Arg | Ala | Thr | Ile | Ala | Asn | Met | Ala | Pro | Glu | Tyr | Gly | Ala | Thr | | |
| | | 300 | | | | 305 | | | | | | 310 | | | | | |
| tgt | ggt | ttc | ttc | cca | gtt | gat | gaa | gaa | tca | ctt | aaa | tac | atg | aaa | tta | 1672 | |
| Cys | Gly | Phe | Phe | Pro | Val | Asp | Glu | Glu | Ser | Leu | Lys | Tyr | Met | Lys | Leu | | |
| | 315 | | | | | 320 | | | | 325 | | | | | | | |
| act | ggt | cgt | aaa | gat | gat | cat | att | gca | cta | gta | aaa | gaa | tat | tta | caa | 1720 | |
| Thr | Gly | Arg | Lys | Asp | Asp | His | Ile | Ala | Leu | Val | Lys | Glu | Tyr | Leu | Gln | | |
| 330 | | | | | 335 | | | | | 340 | | | | | 345 | | |
| caa | aat | aat | atg | ttc | ttc | caa | gtt | gaa | aat | gaa | gat | cct | gaa | tat | act | 1768 | |
| Gln | Asn | Asn | Met | Phe | Phe | Gln | Val | Glu | Asn | Glu | Asp | Pro | Glu | Tyr | Thr | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

62/123

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|------|
| | | | | 350 | | | | | 355 | | | | 360 | | | | |
| gaa | gtg | att | gat | tta | gat | tta | tct | aca | gtt | caa | gct | tct | tta | tca | ggt | | 1816 |
| Glu | Val | Ile | Asp | Leu | Asp | Leu | Ser | Thr | Val | Gln | Ala | Ser | Leu | Ser | Gly | | |
| | | | 365 | | | | | | 370 | | | | 375 | | | | |
| cca | aaa | cgt | cca | caa | gat | tta | atc | ttc | tta | agt | gac | atg | aaa | act | gaa | | 1864 |
| Pro | Lys | Arg | Pro | Gln | Asp | Leu | Ile | Phe | Leu | Ser | Asp | Met | Lys | Thr | Glu | | |
| | | | 380 | | | | | | 385 | | | | 390 | | | | |
| ttc | gaa | aaa | tca | gtt | aca | gca | cca | gct | ggt | aac | caa | ggt | cac | ggt | tta | | 1912 |
| Phe | Glu | Lys | Ser | Val | Thr | Ala | Pro | Ala | Gly | Asn | Gln | Gly | His | Gly | Leu | | |
| | | | 395 | | | | | | 400 | | | | 405 | | | | |
| gat | gaa | agt | gaa | ttt | gat | aag | aaa | gca | gaa | atc | aaa | ttt | aat | gat | ggt | | 1960 |
| Asp | Glu | Ser | Glu | Phe | Asp | Lys | Lys | Ala | Glu | Ile | Lys | Phe | Asn | Asp | Gly | | |
| 410 | | | | | | 415 | | | | | 420 | | | | 425 | | |
| aga | act | tca | act | atg | aag | act | ggt | gat | gtt | gcg | att | gca | gcg | att | aca | | 2008 |
| Arg | Thr | Ser | Thr | Met | Lys | Thr | Gly | Asp | Val | Ala | Ile | Ala | Ala | Ile | Thr | | |
| | | | | 430 | | | | | 435 | | | | | | 440 | | |
| tca | tgt | aca | aat | aca | tct | aac | cct | tac | gtt | atg | tta | ggt | gca | ggt | tta | | 2056 |
| Ser | Cys | Thr | Asn | Thr | Ser | Asn | Pro | Tyr | Val | Met | Leu | Gly | Ala | Gly | Leu | | |
| | | | 445 | | | | | | 450 | | | | | | 455 | | |
| gta | gct | aaa | aaa | gca | att | gaa | aaa | ggc | tta | aaa | gta | cct | gat | tat | gta | | 2104 |
| Val | Ala | Lys | Lys | Ala | Ile | Glu | Lys | Gly | Leu | Lys | Val | Pro | Asp | Tyr | Val | | |
| | | | 460 | | | | | | 465 | | | | | | 470 | | |
| aaa | act | tca | tta | gca | cca | ggt | tca | aaa | gtt | gtt | act | gga | tat | tta | aga | | 2152 |
| Lys | Thr | Ser | Leu | Ala | Pro | Gly | Ser | Lys | Val | Val | Thr | Gly | Tyr | Leu | Arg | | |
| | | | 475 | | | | | | 480 | | | | | | 485 | | |
| gat | tca | ggt | tta | caa | gaa | tat | ctt | gat | gac | tta | ggt | ttc | aac | tta | gtt | | 2200 |
| Asp | Ser | Gly | Leu | Gln | Glu | Tyr | Leu | Asp | Asp | Leu | Gly | Phe | Asn | Leu | Val | | |
| 490 | | | | | | 495 | | | | | 500 | | | | 505 | | |
| ggt | tat | ggt | tgt | aca | act | tgt | atc | ggt | aac | tca | ggt | cca | tta | tta | cct | | 2248 |
| Gly | Tyr | Gly | Cys | Thr | Thr | Cys | Ile | Gly | Asn | Ser | Gly | Pro | Leu | Leu | Pro | | |
| | | | | 510 | | | | | 515 | | | | | | 520 | | |
| gaa | att | gaa | aaa | gca | gta | gct | gac | gaa | gat | tta | tta | gta | act | tct | gta | | 2296 |
| Glu | Ile | Glu | Lys | Ala | Val | Ala | Asp | Glu | Asp | Leu | Leu | Val | Thr | Ser | Val | | |
| | | | 525 | | | | | | 530 | | | | | | 535 | | |
| ctt | tct | ggt | aac | cgt | aac | ttt | gaa | ggt | cgt | atc | cat | ccg | tta | gtt | aaa | | 2344 |
| Leu | Ser | Gly | Asn | Arg | Asn | Phe | Glu | Gly | Arg | Ile | His | Pro | Leu | Val | Lys | | |
| | | | 540 | | | | | | 545 | | | | | | 550 | | |
| gct | aac | tac | tta | gct | tca | cca | caa | tta | gtt | gta | gct | tat | gca | tta | gct | | 2392 |
| Ala | Asn | Tyr | Leu | Ala | Ser | Pro | Gln | Leu | Val | Val | Ala | Tyr | Ala | Leu | Ala | | |
| | | | 555 | | | | | | 560 | | | | | | 565 | | |
| gga | acg | gtt | gat | atc | gat | tta | cac | aat | gaa | cct | atc | ggt | aaa | ggt | aaa | | 2440 |
| Gly | Thr | Val | Asp | Ile | Asp | Leu | His | Asn | Glu | Pro | Ile | Gly | Lys | Gly | Lys | | |
| 570 | | | | | | 575 | | | | | 580 | | | | 585 | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

63/123

| | |
|---|------|
| gat ggc gaa gat gta tac ctt aaa gat atc tgg cca agt atc aaa gaa | 2488 |
| Asp Gly Glu Asp Val Tyr Leu Lys Asp Ile Trp Pro Ser Ile Lys Glu | |
| 590 595 600 | |
| gtt gca gac act gtt gat agt gtc gta acg cca gaa tta ttc tta gaa | 2536 |
| Val Ala Asp Thr Val Asp Ser Val Val Thr Pro Glu Leu Phe Leu Glu | |
| 605 610 615 | |
| gaa tat gca aat gta tac gaa aat aat gaa atg tgg aat gaa atc gac | 2584 |
| Glu Tyr Ala Asn Val Tyr Glu Asn Asn Glu Met Trp Asn Glu Ile Asp | |
| 620 625 630 | |
| gtt act gac gca cca tta tat gat ttc gat cca aat tca act tat att | 2632 |
| Val Thr Asp Ala Pro Leu Tyr Asp Phe Asp Pro Asn Ser Thr Tyr Ile | |
| 635 640 645 | |
| caa aat cca tca ttc ttc caa ggt tta tct aaa gaa cca gga act att | 2680 |
| Gln Asn Pro Ser Phe Phe Gln Gly Leu Ser Lys Glu Pro Gly Thr Ile | |
| 650 655 660 665 | |
| gaa cca tta aaa gat tta cgt att atg ggt aaa ttt ggt gat tca gtt | 2728 |
| Glu Pro Leu Lys Asp Leu Arg Ile Met Gly Lys Phe Gly Asp Ser Val | |
| 670 675 680 | |
| aca act gac cac att tct cca gca ggt gcg atc ggt aaa gat aca cca | 2776 |
| Thr Thr Asp His Ile Ser Pro Ala Gly Ala Ile Gly Lys Asp Thr Pro | |
| 685 690 695 | |
| gca ggt aaa tat tta tta gac cat gat gtt cca att aga gaa ttt aac | 2824 |
| Ala Gly Lys Tyr Leu Leu Asp His Asp Val Pro Ile Arg Glu Phe Asn | |
| 700 705 710 | |
| tct tat ggt tca aga cgt ggt aac cat gaa gta atg gta cgt ggt act | 2872 |
| Ser Tyr Gly Ser Arg Arg Gly Asn His Glu Val Met Val Arg Gly Thr | |
| 715 720 725 | |
| ttc gct aat atc cgt att aaa aac caa tta gca cca ggc act gaa ggt | 2920 |
| Phe Ala Asn Ile Arg Ile Lys Asn Gln Leu Ala Pro Gly Thr Glu Gly | |
| 730 735 740 745 | |
| gga ttt aca aca tat tgg cct aca gaa gaa atc atg cct atc tat gat | 2968 |
| Gly Phe Thr Thr Tyr Trp Pro Thr Glu Glu Ile Met Pro Ile Tyr Asp | |
| 750 755 760 | |
| gca gct atg aga tac aaa gaa aat ggt act ggt tta gct gtt tta gct | 3016 |
| Ala Ala Met Arg Tyr Lys Glu Asn Gly Thr Gly Leu Ala Val Leu Ala | |
| 765 770 775 | |
| ggt aat gat tac ggt atg ggt tca tct cgt gac tgg gca gct aaa ggt | 3064 |
| Gly Asn Asp Tyr Gly Met Gly Ser Ser Arg Asp Trp Ala Ala Lys Gly | |
| 780 785 790 | |
| act aac tta tta ggt gtt aaa act gtt att gca caa agt tat gaa cgt | 3112 |
| Thr Asn Leu Leu Gly Val Lys Thr Val Ile Ala Gln Ser Tyr Glu Arg | |
| 795 800 805 | |
| atc cat cgt tca aac tta gta atg atg ggt gta tta cca tta caa ttt | 3160 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

64/123

```

Ile His Arg Ser Asn Leu Val Met Met Gly Val Leu Pro Leu Gln Phe
810                      815                      820                      825
aaa caa ggt gag tca gct gat tct cta ggt tta gaa ggt aaa gaa gaa 3208
Lys Gln Gly Glu Ser Ala Asp Ser Leu Gly Leu Glu Gly Lys Glu Glu
                      830                      835                      840
att tct gta gat atc gat gaa aat gtt aaa cca cat gat tta gta act 3256
Ile Ser Val Asp Ile Asp Glu Asn Val Lys Pro His Asp Leu Val Thr
                      845                      850                      855
gtt cat gct aaa aaa gaa aac gga gaa gtt gtt gat ttt gaa gca atg 3304
Val His Ala Lys Lys Glu Asn Gly Glu Val Val Asp Phe Glu Ala Met
                      860                      865                      870
gtt cgt ttc gat tca tta gta gaa tta gat tat tat cgt cat ggt ggt 3352
Val Arg Phe Asp Ser Leu Val Glu Leu Asp Tyr Tyr Arg His Gly Gly
                      875                      880                      885
atc tta caa atg gta tta aga aac aaa tta gct caa taatcacaat 3398
Ile Leu Gln Met Val Leu Arg Asn Lys Leu Ala Gln
890                      895                      900
gtgacttttg acagtgctaa cgtttaggtt agcactgttt ttttatgcta aactatatat 3458
gtaatgttaa tagttaagga aggattggac ttaaatgatt tatagtttga ctgaaattga 3518
accaagatat caagagacag ataaaaatggg cgtgatttat catggcaatt atgcaacatg 3578
gtttgaagta gcgcgtacag attacattag aaaactagga tttagttatg ctgatatgga 3638
aaagcaaggg atcatttctc cagttacaga cttaaataatc aaatataaaa aatcaatttt 3698
ttatcctgaa aaagtaacca ttaaaacatg ggtggaaaaa tattcaagat tacgttctgt 3758
gtatagatat gaaattttta atgaacaggg agaacttgca actacaggtt atactgagtt 3818
aatttgtatg aaagctgata ccttttagacc aattagatta gatcgttatt tctcagattg 3878
gcatgaaacc tatagtaaag ttgaagctt 3907

```

<210> 28

<211> 901

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 28

```

Met Ala Ser Asn Phe Lys Glu Thr Ala Lys Lys Gln Phe Asp Leu Asn
  1                      5                      10                      15
Gly Gln Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asp Leu Lys Ser Leu Glu Glu Gln Gly
                20                      25                      30
Leu Thr Lys Ile Ser Lys Leu Pro Tyr Ser Ile Arg Val Leu Leu Glu
                35                      40                      45
Ser Val Leu Arg Gln Glu Asp Asp Phe Val Ile Thr Asp Asp His Ile
                50                      55                      60
Lys Gln Leu Ala Glu Phe Gly Lys Lys Gly Asn Glu Gly Glu Val Pro
        65                      70                      75                      80

```

THIS PAGE BLANK (USF)

65/123

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| Phe | Lys | Pro | Ser | Arg | Val | Ile | Leu | Gln | Asp | Phe | Thr | Gly | Val | Pro | Ala | |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | |
| Val | Val | Asp | Leu | Ala | Ser | Leu | Arg | Lys | Ala | Met | Asn | Asp | Val | Gly | Gly | |
| | | 100 | | | | | | 105 | | | | | 110 | | | |
| Asp | Ile | Asn | Lys | Ile | Asn | Pro | Glu | Val | Pro | Val | Asp | Leu | Val | Ile | Asp | |
| | 115 | | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | |
| His | Ser | Val | Gln | Val | Asp | Ser | Tyr | Ala | Asn | Pro | Asp | Ala | Leu | Gln | Arg | |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | | |
| Asn | Met | Lys | Leu | Glu | Phe | Glu | Arg | Asn | Tyr | Glu | Arg | Tyr | Gln | Phe | Leu | |
| 145 | | | | 150 | | | | | | 155 | | | | | 160 | |
| Asn | Trp | Ala | Thr | Lys | Ala | Phe | Asp | Asn | Tyr | Asn | Ala | Val | Pro | Pro | Ala | |
| | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | | | |
| Thr | Gly | Ile | Val | His | Gln | Val | Asn | Leu | Glu | Tyr | Leu | Ala | Asn | Val | Val | |
| | | 180 | | | | | 185 | | | | | | 190 | | | |
| His | Val | Arg | Asp | Val | Asp | Gly | Glu | Gln | Thr | Ala | Phe | Pro | Asp | Thr | Leu | |
| | 195 | | | | | 200 | | | | | | 205 | | | | |
| Val | Gly | Thr | Asp | Ser | His | Thr | Thr | Met | Ile | Asn | Gly | Ile | Gly | Val | Leu | |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | | |
| Gly | Trp | Gly | Val | Gly | Gly | Ile | Glu | Ala | Glu | Ala | Gly | Met | Leu | Gly | Gln | |
| 225 | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | | 240 | |
| Pro | Ser | Tyr | Phe | Pro | Ile | Pro | Glu | Val | Ile | Gly | Val | Lys | Leu | Ser | Asn | |
| | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | | | |
| Glu | Leu | Pro | Gln | Gly | Ser | Thr | Ala | Thr | Asp | Leu | Ala | Leu | Arg | Val | Thr | |
| | | 260 | | | | | 265 | | | | | | 270 | | | |
| Glu | Glu | Leu | Arg | Lys | Arg | Gly | Val | Val | Gly | Lys | Phe | Val | Glu | Phe | Phe | |
| | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | | | |
| Gly | Pro | Gly | Val | Thr | Asn | Leu | Pro | Leu | Ala | Asp | Arg | Ala | Thr | Ile | Ala | |
| | 290 | | | | 295 | | | | | 300 | | | | | | |
| Asn | Met | Ala | Pro | Glu | Tyr | Gly | Ala | Thr | Cys | Gly | Phe | Phe | Pro | Val | Asp | |
| 305 | | | | 310 | | | | | | 315 | | | | | 320 | |
| Glu | Glu | Ser | Leu | Lys | Tyr | Met | Lys | Leu | Thr | Gly | Arg | Lys | Asp | Asp | His | |
| | | | 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | | | |
| Ile | Ala | Leu | Val | Lys | Glu | Tyr | Leu | Gln | Gln | Asn | Asn | Met | Phe | Phe | Gln | |
| | | 340 | | | | | 345 | | | | | | 350 | | | |
| Val | Glu | Asn | Glu | Asp | Pro | Glu | Tyr | Thr | Glu | Val | Ile | Asp | Leu | Asp | Leu | |
| | 355 | | | | | 360 | | | | | | 365 | | | | |
| Ser | Thr | Val | Gln | Ala | Ser | Leu | Ser | Gly | Pro | Lys | Arg | Pro | Gln | Asp | Leu | |
| | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | | |
| Ile | Phe | Leu | Ser | Asp | Met | Lys | Thr | Glu | Phe | Glu | Lys | Ser | Val | Thr | Ala | |
| 385 | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | | 400 | |
| Pro | Ala | Gly | Asn | Gln | Gly | His | Gly | Leu | Asp | Glu | Ser | Glu | Phe | Asp | Lys | |
| | | | 405 | | | | | 410 | | | | | 415 | | | |
| Lys | Ala | Glu | Ile | Lys | Phe | Asn | Asp | Gly | Arg | Thr | Ser | Thr | Met | Lys | Thr | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

66/123

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|
| 420 | | | | | | | | | | 425 | | | | | 430 | | | | |
| Gly | Asp | Val | Ala | Ile | Ala | Ala | Ile | Thr | Ser | Cys | Thr | Asn | Thr | Ser | Asn | | | | |
| 435 | | | | | | | | | | 440 | | | | | 445 | | | | |
| Pro | Tyr | Val | Met | Leu | Gly | Ala | Gly | Leu | Val | Ala | Lys | Lys | Ala | Ile | Glu | | | | |
| 450 | | | | | | | | | | 455 | | | | | 460 | | | | |
| Lys | Gly | Leu | Lys | Val | Pro | Asp | Tyr | Val | Lys | Thr | Ser | Leu | Ala | Pro | Gly | | | | |
| 465 | | | | | | | | | | 470 | | | | | 475 | | | | |
| Ser | Lys | Val | Val | Thr | Gly | Tyr | Leu | Arg | Asp | Ser | Gly | Leu | Gln | Glu | Tyr | | | | |
| 485 | | | | | | | | | | 490 | | | | | 495 | | | | |
| Leu | Asp | Asp | Leu | Gly | Phe | Asn | Leu | Val | Gly | Tyr | Gly | Cys | Thr | Thr | Cys | | | | |
| 500 | | | | | | | | | | 505 | | | | | 510 | | | | |
| Ile | Gly | Asn | Ser | Gly | Pro | Leu | Leu | Pro | Glu | Ile | Glu | Lys | Ala | Val | Ala | | | | |
| 515 | | | | | | | | | | 520 | | | | | 525 | | | | |
| Asp | Glu | Asp | Leu | Leu | Val | Thr | Ser | Val | Leu | Ser | Gly | Asn | Arg | Asn | Phe | | | | |
| 530 | | | | | | | | | | 535 | | | | | 540 | | | | |
| Glu | Gly | Arg | Ile | His | Pro | Leu | Val | Lys | Ala | Asn | Tyr | Leu | Ala | Ser | Pro | | | | |
| 545 | | | | | | | | | | 550 | | | | | 555 | | | | |
| Gln | Leu | Val | Val | Ala | Tyr | Ala | Leu | Ala | Gly | Thr | Val | Asp | Ile | Asp | Leu | | | | |
| 565 | | | | | | | | | | 570 | | | | | 575 | | | | |
| His | Asn | Glu | Pro | Ile | Gly | Lys | Gly | Lys | Asp | Gly | Glu | Asp | Val | Tyr | Leu | | | | |
| 580 | | | | | | | | | | 585 | | | | | 590 | | | | |
| Lys | Asp | Ile | Trp | Pro | Ser | Ile | Lys | Glu | Val | Ala | Asp | Thr | Val | Asp | Ser | | | | |
| 595 | | | | | | | | | | 600 | | | | | 605 | | | | |
| Val | Val | Thr | Pro | Glu | Leu | Phe | Leu | Glu | Glu | Tyr | Ala | Asn | Val | Tyr | Glu | | | | |
| 610 | | | | | | | | | | 615 | | | | | 620 | | | | |
| Asn | Asn | Glu | Met | Trp | Asn | Glu | Ile | Asp | Val | Thr | Asp | Ala | Pro | Leu | Tyr | | | | |
| 625 | | | | | | | | | | 630 | | | | | 635 | | | | |
| Asp | Phe | Asp | Pro | Asn | Ser | Thr | Tyr | Ile | Gln | Asn | Pro | Ser | Phe | Phe | Gln | | | | |
| 645 | | | | | | | | | | 650 | | | | | 655 | | | | |
| Gly | Leu | Ser | Lys | Glu | Pro | Gly | Thr | Ile | Glu | Pro | Leu | Lys | Asp | Leu | Arg | | | | |
| 660 | | | | | | | | | | 665 | | | | | 670 | | | | |
| Ile | Met | Gly | Lys | Phe | Gly | Asp | Ser | Val | Thr | Thr | Asp | His | Ile | Ser | Pro | | | | |
| 675 | | | | | | | | | | 680 | | | | | 685 | | | | |
| Ala | Gly | Ala | Ile | Gly | Lys | Asp | Thr | Pro | Ala | Gly | Lys | Tyr | Leu | Leu | Asp | | | | |
| 690 | | | | | | | | | | 695 | | | | | 700 | | | | |
| His | Asp | Val | Pro | Ile | Arg | Glu | Phe | Asn | Ser | Tyr | Gly | Ser | Arg | Arg | Gly | | | | |
| 705 | | | | | | | | | | 710 | | | | | 715 | | | | |
| Asn | His | Glu | Val | Met | Val | Arg | Gly | Thr | Phe | Ala | Asn | Ile | Arg | Ile | Lys | | | | |
| 725 | | | | | | | | | | 730 | | | | | 735 | | | | |
| Asn | Gln | Leu | Ala | Pro | Gly | Thr | Glu | Gly | Gly | Phe | Thr | Thr | Tyr | Trp | Pro | | | | |
| 740 | | | | | | | | | | 745 | | | | | 750 | | | | |
| Thr | Glu | Glu | Ile | Met | Pro | Ile | Tyr | Asp | Ala | Ala | Met | Arg | Tyr | Lys | Glu | | | | |
| 755 | | | | | | | | | | 760 | | | | | 765 | | | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

67/123

Asn Gly Thr Gly Leu Ala Val Leu Ala Gly Asn Asp Tyr Gly Met Gly
 770 775 780
 Ser Ser Arg Asp Trp Ala Ala Lys Gly Thr Asn Leu Leu Gly Val Lys
 785 790 795 800
 Thr Val Ile Ala Gln Ser Tyr Glu Arg Ile His Arg Ser Asn Leu Val
 805 810 815
 Met Met Gly Val Leu Pro Leu Gln Phe Lys Gln Gly Glu Ser Ala Asp
 820 825 830
 Ser Leu Gly Leu Glu Gly Lys Glu Glu Ile Ser Val Asp Ile Asp Glu
 835 840 845
 Asn Val Lys Pro His Asp Leu Val Thr Val His Ala Lys Lys Glu Asn
 850 855 860
 Gly Glu Val Val Asp Phe Glu Ala Met Val Arg Phe Asp Ser Leu Val
 865 870 875 880
 Glu Leu Asp Tyr Tyr Arg His Gly Gly Ile Leu Gln Met Val Leu Arg
 885 890 895
 Asn Lys Leu Ala Gln
 900

<210> 29

<211> 3006

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (328)..(2514)

<400> 29

gtgcagcagc aacccccccac cgccgaacca gccgccgate tgggtgtggga gacacccggg 60
 ttctctctccc tgggtgaaca ggtgccacaa ccccgctcca acaggcacac ctaccactgg 120
 atcgccggggg agagcagcat ggtcacacgc ctgcggcggtg ccctgggtgaa ggatcacggc 180
 ctggacagat cgcaggtggc attcatgggt tattggaggc agggagtggc catgaggggt 240
 tgatategct tccctgaggg tccgcaggcg tgcctcaccc tgtattcttg atagttgaac 300
 aaaagagccc acataacaag gagactc atg gct aag atc atc tgg acc cgc acc 354
 Met Ala Lys Ile Ile Trp Thr Arg Thr
 1 5
 gac gaa gca ccg ctg ctc gcg acc tac tcg ctg aag ccg gtc gtc gag 402
 Asp Glu Ala Pro Leu Leu Ala Thr Tyr Ser Leu Lys Pro Val Val Glu
 10 15 20 25
 gct ttc gcc gcc acc gcg ggc atc gag gtg gag acc cgc gat atc tct 450
 Ala Phe Ala Ala Thr Ala Gly Ile Glu Val Glu Thr Arg Asp Ile Ser
 30 35 40

THIS PAGE BLANK (USPTO)

| | |
|---|------|
| ctc gcc ggt cgc atc ctc gca cag ttc gcg gac cag ctc ccc gag gag | 498 |
| Leu Ala Gly Arg Ile Leu Ala Gln Phe Ala Asp Gln Leu Pro Glu Glu | |
| 45 50 55 | |
| cag aag gtc tcc gac gcc ctc gcc gag ctc ggc gaa ctg gct aag acc | 546 |
| Gln Lys Val Ser Asp Ala Leu Ala Glu Leu Gly Glu Leu Ala Lys Thr | |
| 60 65 70 | |
| ccc gaa gcc aac atc atc aag ctt ccc aac atc tcc gca tcc gta ccg | 594 |
| Pro Glu Ala Asn Ile Ile Lys Leu Pro Asn Ile Ser Ala Ser Val Pro | |
| 75 80 85 | |
| cag ctc aag gct gcc gta aag gaa ctg cag gaa cag ggc tac gac ctg | 642 |
| Gln Leu Lys Ala Ala Val Lys Glu Leu Gln Glu Gln Gly Tyr Asp Leu | |
| 90 95 100 105 | |
| ccc gag tac gag gat gcc aag gac cgc tac gcc gct gtc atc ggc tcc | 690 |
| Pro Glu Tyr Glu Asp Ala Lys Asp Arg Tyr Ala Ala Val Ile Gly Ser | |
| 110 115 120 | |
| aac gtc aac ccg gtc ctg cgc gag ggc aac tcc gac cgc cgc gca ccg | 738 |
| Asn Val Asn Pro Val Leu Arg Glu Gly Asn Ser Asp Arg Arg Ala Pro | |
| 125 130 135 | |
| gtg gcc gtg aag aac ttc gtg aag aag ttc ccc cac cgc atg ggc gag | 786 |
| Val Ala Val Lys Asn Phe Val Lys Lys Phe Pro His Arg Met Gly Glu | |
| 140 145 150 | |
| tgg tcc gcc gac tcc aag acc aac gtt gcc acc atg ggt gcc gac gac | 834 |
| Trp Ser Ala Asp Ser Lys Thr Asn Val Ala Thr Met Gly Ala Asp Asp | |
| 155 160 165 | |
| ttc cgc agc aat gag aag tcc gtg atc atg gac gag gcc gac acc gtg | 882 |
| Phe Arg Ser Asn Glu Lys Ser Val Ile Met Asp Glu Ala Asp Thr Val | |
| 170 175 180 185 | |
| gtg atc aag cat gtc gcc gcc gac ggc acc gag acc gtg ctc aag gac | 930 |
| Val Ile Lys His Val Ala Ala Asp Gly Thr Glu Thr Val Leu Lys Asp | |
| 190 195 200 | |
| agc ctc ccc ctg ctc aag ggt gag gtc atc gac ggc acc ttc atc tcc | 978 |
| Ser Leu Pro Leu Leu Lys Gly Glu Val Ile Asp Gly Thr Phe Ile Ser | |
| 205 210 215 | |
| gcc aag gca ctg gac gcc ttc ctg ctc gac cag gtc aaa cgc gcc aag | 1026 |
| Ala Lys Ala Leu Asp Ala Phe Leu Leu Asp Gln Val Lys Arg Ala Lys | |
| 220 225 230 | |
| gag gag ggc atc ctc ttc tcc gcc cac atg aag gcc acc atg atg aag | 1074 |
| Glu Glu Gly Ile Leu Phe Ser Ala His Met Lys Ala Thr Met Met Lys | |
| 235 240 245 | |
| gtc tcc gac ccg atc atc ttc ggc cac atc gtc cgc gcc tac ttc gcc | 1122 |
| Val Ser Asp Pro Ile Ile Phe Gly His Ile Val Arg Ala Tyr Phe Ala | |
| 250 255 260 265 | |
| gat gtc tac gca cag tac ggt gag cag ctg ctc gcc gcc ggc ctc aac | 1170 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| Asp | Val | Tyr | Ala | Gln | Tyr | Gly | Glu | Gln | Leu | Leu | Ala | Ala | Gly | Leu | Asn | |
| | | | 270 | | | | | 275 | | | | | | 280 | | |
| ggt | gag | aac | ggt | ctc | gcc | gcc | atc | tac | gcc | ggc | ctg | gac | aag | ctg | gac | 1218 |
| Gly | Glu | Asn | Gly | Leu | Ala | Ala | Ile | Tyr | Ala | Gly | Leu | Asp | Lys | Leu | Asp | |
| | | | 285 | | | | | 290 | | | | | | 295 | | |
| aac | ggt | gcc | gag | atc | aag | gca | gcc | ttc | gac | aag | ggc | ctg | gaa | gag | ggc | 1266 |
| Asn | Gly | Ala | Glu | Ile | Lys | Ala | Ala | Phe | Asp | Lys | Gly | Leu | Glu | Glu | Gly | |
| | | | 300 | | | | | 305 | | | | | | 310 | | |
| ccc | gac | ctg | gcc | atg | gtg | aac | tcc | gcc | aag | ggc | atc | acc | aac | ctg | cat | 1314 |
| Pro | Asp | Leu | Ala | Met | Val | Asn | Ser | Ala | Lys | Gly | Ile | Thr | Asn | Leu | His | |
| | | | 315 | | | | | 320 | | | | | | 325 | | |
| gtg | ccc | tcc | gat | gtc | atc | atc | gac | gcc | tcc | atg | ccc | gcc | atg | atc | cgc | 1362 |
| Val | Pro | Ser | Asp | Val | Ile | Ile | Asp | Ala | Ser | Met | Pro | Ala | Met | Ile | Arg | |
| | | | 330 | | | | | 335 | | | | | | 340 | | 345 |
| acc | tcc | ggc | aag | atg | tgg | aac | aag | gac | gac | cag | acc | cag | gat | gcc | ctg | 1410 |
| Thr | Ser | Gly | Lys | Met | Trp | Asn | Lys | Asp | Asp | Gln | Thr | Gln | Asp | Ala | Leu | |
| | | | | | | | | 350 | | | | | | 355 | | 360 |
| gct | gtc | atc | ccg | gac | tcc | tcc | tac | gcc | ggt | gtc | tac | cag | acc | gtc | atc | 1458 |
| Ala | Val | Ile | Pro | Asp | Ser | Ser | Tyr | Ala | Gly | Val | Tyr | Gln | Thr | Val | Ile | |
| | | | 365 | | | | | 370 | | | | | | 375 | | |
| gag | gac | tgc | cgc | aag | aat | ggc | gcc | ttc | gat | ccg | acc | acc | atg | ggc | acc | 1506 |
| Glu | Asp | Cys | Arg | Lys | Asn | Gly | Ala | Phe | Asp | Pro | Thr | Thr | Met | Gly | Thr | |
| | | | 380 | | | | | 385 | | | | | | 390 | | |
| gtc | ccc | aac | gtc | ggt | ctg | atg | gca | cag | aag | gcc | gag | gag | tac | ggc | tcc | 1554 |
| Val | Pro | Asn | Val | Gly | Leu | Met | Ala | Gln | Lys | Ala | Glu | Glu | Tyr | Gly | Ser | |
| | | | 395 | | | | | 400 | | | | | | 405 | | |
| cac | gac | aag | acc | ttc | cgt | atc | gag | gcc | gac | ggc | aag | gta | cag | gtc | gtc | 1602 |
| His | Asp | Lys | Thr | Phe | Arg | Ile | Glu | Ala | Asp | Gly | Lys | Val | Gln | Val | Val | |
| | | | 410 | | | | | 415 | | | | | | 420 | | 425 |
| gcc | tcc | aac | ggt | gat | gtc | ctc | atc | gag | cac | gac | gtg | gag | aag | ggc | gac | 1650 |
| Ala | Ser | Asn | Gly | Asp | Val | Leu | Ile | Glu | His | Asp | Val | Glu | Lys | Gly | Asp | |
| | | | | | | | | 430 | | | | | | 435 | | 440 |
| atc | tgg | cgc | gcc | tgc | cag | acc | aag | gac | gcc | ccg | atc | cag | gac | tgg | gtc | 1698 |
| Ile | Trp | Arg | Ala | Cys | Gln | Thr | Lys | Asp | Ala | Pro | Ile | Gln | Asp | Trp | Val | |
| | | | 445 | | | | | 450 | | | | | | 455 | | |
| aag | ctg | gct | gtc | aac | cgc | gca | cgt | ctc | tcc | ggc | atg | ccc | gct | gtg | ttc | 1746 |
| Lys | Leu | Ala | Val | Asn | Arg | Ala | Arg | Leu | Ser | Gly | Met | Pro | Ala | Val | Phe | |
| | | | 460 | | | | | 465 | | | | | | 470 | | |
| tgg | ctg | gat | ccc | gcc | cgc | gca | cac | gac | cgc | aac | ctg | acc | aca | ctg | gtg | 1794 |
| Trp | Leu | Asp | Pro | Ala | Arg | Ala | His | Asp | Arg | Asn | Leu | Thr | Thr | Leu | Val | |
| | | | 475 | | | | | 480 | | | | | | 485 | | |
| gag | aag | tac | ctg | gca | gac | cac | gac | acc | gag | ggc | ctg | gac | atc | cag | atc | 1842 |
| Glu | Lys | Tyr | Leu | Ala | Asp | His | Asp | Thr | Glu | Gly | Leu | Asp | Ile | Gln | Ile | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

70/123

| | | | | | | | |
|---|---|------|--|-----|--|-----|--|
| 490 | | 495 | | 500 | | 505 | |
| ctc tcc ccc gtc | gag gcc acc cag cac gcc atc gac cgc atc cgc cgc | 1890 | | | | | |
| Leu Ser Pro Val | Glu Ala Thr Gln His Ala Ile Asp Arg Ile Arg Arg | | | | | | |
| | 510 515 520 | | | | | | |
| ggc gag gac acc atc tcc gtc acc ggt aac gtc ctg cgt gac tac aac | 1938 | | | | | | |
| Gly Glu Asp Thr Ile Ser Val Thr Gly Asn Val Leu Arg Asp Tyr Asn | | | | | | | |
| | 525 530 535 | | | | | | |
| acc gac ctc ttc ccg atc ctc gag ctg ggc acc tcc gcc aag atg ctc | 1986 | | | | | | |
| Thr Asp Leu Phe Pro Ile Leu Glu Leu Gly Thr Ser Ala Lys Met Leu | | | | | | | |
| | 540 545 550 | | | | | | |
| tcc gtc gtg cca ctg atg gcc ggc ggt gga ctc ttc gag acc ggt gcc | 2034 | | | | | | |
| Ser Val Val Pro Leu Met Ala Gly Gly Gly Leu Phe Glu Thr Gly Ala | | | | | | | |
| | 555 560 565 | | | | | | |
| ggt ggc tcc gcc ccg aag cac gtc cag cag gtc atc gag gaa aac cac | 2082 | | | | | | |
| Gly Gly Ser Ala Pro Lys His Val Gln Gln Val Ile Glu Glu Asn His | | | | | | | |
| | 570 575 580 585 | | | | | | |
| ctg cgc tgg gat tcc ctc ggt gag ttc ctg gcc ctg gcc gag tcc ttc | 2130 | | | | | | |
| Leu Arg Trp Asp Ser Leu Gly Glu Phe Leu Ala Leu Ala Glu Ser Phe | | | | | | | |
| | 590 595 600 | | | | | | |
| cgc cac gag ctc aac acc cgc aac aac acc aag gcc ggt gtc ctc gcc | 2178 | | | | | | |
| Arg His Glu Leu Asn Thr Arg Asn Asn Thr Lys Ala Gly Val Leu Ala | | | | | | | |
| | 605 610 615 | | | | | | |
| gat gcc ctg gac cgt gcg acc gag aag ctc ctc aac gag gag aag tcc | 2226 | | | | | | |
| Asp Ala Leu Asp Arg Ala Thr Glu Lys Leu Leu Asn Glu Glu Lys Ser | | | | | | | |
| | 620 625 630 | | | | | | |
| ccg tcc cgc aag gtc ggc gag atc gac aac cgt ggt tcc cac ttc tgg | 2274 | | | | | | |
| Pro Ser Arg Lys Val Gly Glu Ile Asp Asn Arg Gly Ser His Phe Trp | | | | | | | |
| | 635 640 645 | | | | | | |
| ctg gcc acc tac tgg gcc gat gaa ctg gcc aac cag acc gag gac gcc | 2322 | | | | | | |
| Leu Ala Thr Tyr Trp Ala Asp Glu Leu Ala Asn Gln Thr Glu Asp Ala | | | | | | | |
| | 650 655 660 665 | | | | | | |
| gag ctg gct gag acc ttc gcc cct gtc gcc gag gcc ctg aac aac cag | 2370 | | | | | | |
| Glu Leu Ala Glu Thr Phe Ala Pro Val Ala Glu Ala Leu Asn Asn Gln | | | | | | | |
| | 670 675 680 | | | | | | |
| gct gcc gac atc gac gca gca ctc atc ggt gag cag ggc aag cct gtc | 2418 | | | | | | |
| Ala Ala Asp Ile Asp Ala Ala Leu Ile Gly Glu Gln Gly Lys Pro Val | | | | | | | |
| | 685 690 695 | | | | | | |
| gac ctg ggt ggc tac tac gca ccc tcc gat gag aag acc tcc gcg atc | 2466 | | | | | | |
| Asp Leu Gly Gly Tyr Tyr Ala Pro Ser Asp Glu Lys Thr Ser Ala Ile | | | | | | | |
| | 700 705 710 | | | | | | |
| atg cgc ccg gtg gcc gca ttc aac gag atc atc gac tcc ctg aag aag | 2514 | | | | | | |
| Met Arg Pro Val Ala Ala Phe Asn Glu Ile Ile Asp Ser Leu Lys Lys | | | | | | | |
| | 715 720 725 | | | | | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

71/123

```

taaccccttc tceggagccg acagccgacg gccacgtccc cccgcccacg ggggatcgtg 2574
gccgtcggcc gtttctggca ctggagtga cacttcggtg ataatggtga gatgaacagc 2634
ccccgtgtcc ccgccatcct gtccgccgtt tccgccgtgg gtctgatcgc tgcgctgggc 2694
acccccgttg ccgtcgaga caccatcacc gcggacaccg accgggaaac ctgcgtggcc 2754
agccagaatg acaactccag cgtgatcagg ttctgggatg acctggaggc cgatgtccgt 2814
gagcagcgcc tgaccgaact ggatgcacag gaccccgcc tcaagaacga catcgaggcc 2874
ttcatcgccg aggaccgggt agcccccctc gcagccgate tccagagacg gctggatgca 2934
aatgacgccg gtgagggcct ggccatgctg ctacctgaat cccgcaccga ccccgaggtg 2994
gtggacctgc ag                                     3006

```

<210> 30

<211> 729

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 30

```

Met Ala Lys Ile Ile Trp Thr Arg Thr Asp Glu Ala Pro Leu Leu Ala
  1             5             10             15
Thr Tyr Ser Leu Lys Pro Val Val Glu Ala Phe Ala Ala Thr Ala Gly
             20             25             30
Ile Glu Val Glu Thr Arg Asp Ile Ser Leu Ala Gly Arg Ile Leu Ala
             35             40             45
Gln Phe Ala Asp Gln Leu Pro Glu Glu Gln Lys Val Ser Asp Ala Leu
             50             55             60
Ala Glu Leu Gly Glu Leu Ala Lys Thr Pro Glu Ala Asn Ile Ile Lys
             65             70             75             80
Leu Pro Asn Ile Ser Ala Ser Val Pro Gln Leu Lys Ala Ala Val Lys
             85             90             95
Glu Leu Gln Glu Gln Gly Tyr Asp Leu Pro Glu Tyr Glu Asp Ala Lys
             100            105            110
Asp Arg Tyr Ala Ala Val Ile Gly Ser Asn Val Asn Pro Val Leu Arg
             115            120            125
Glu Gly Asn Ser Asp Arg Arg Ala Pro Val Ala Val Lys Asn Phe Val
             130            135            140
Lys Lys Phe Pro His Arg Met Gly Glu Trp Ser Ala Asp Ser Lys Thr
             145            150            155            160
Asn Val Ala Thr Met Gly Ala Asp Asp Phe Arg Ser Asn Glu Lys Ser
             165            170            175
Val Ile Met Asp Glu Ala Asp Thr Val Val Ile Lys His Val Ala Ala
             180            185            190
Asp Gly Thr Glu Thr Val Leu Lys Asp Ser Leu Pro Leu Leu Lys Gly
             195            200            205
Glu Val Ile Asp Gly Thr Phe Ile Ser Ala Lys Ala Leu Asp Ala Phe

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

72/123

| | | |
|-----------------------------|---------------------|-------------------------|
| 210 | 215 | 220 |
| Leu Leu Asp Gln Val | Lys Arg Ala Lys Glu | Glu Gly Ile Leu Phe Ser |
| 225 | 230 | 235 |
| Ala His Met Lys Ala Thr | Met Met Lys Val Ser | Asp Pro Ile Ile Phe |
| 245 | 250 | 255 |
| Gly His Ile Val Arg Ala Tyr | Phe Ala Asp Val Tyr | Ala Gln Tyr Gly |
| 260 | 265 | 270 |
| Glu Gln Leu Leu Ala Ala Gly | Leu Asn Gly Glu Asn | Gly Leu Ala Ala |
| 275 | 280 | 285 |
| Ile Tyr Ala Gly Leu Asp Lys | Leu Asp Asn Gly Ala | Glu Ile Lys Ala |
| 290 | 295 | 300 |
| Ala Phe Asp Lys Gly Leu Glu | Glu Gly Pro Asp Leu | Ala Met Val Asn |
| 305 | 310 | 315 |
| Ser Ala Lys Gly Ile Thr Asn | Leu His Val Pro Ser | Asp Val Ile Ile |
| 325 | 330 | 335 |
| Asp Ala Ser Met Pro Ala Met | Ile Arg Thr Ser Gly | Lys Met Trp Asn |
| 340 | 345 | 350 |
| Lys Asp Asp Gln Thr Gln Asp | Ala Leu Ala Val Ile | Pro Asp Ser Ser |
| 355 | 360 | 365 |
| Tyr Ala Gly Val Tyr Gln Thr | Val Ile Glu Asp Cys | Arg Lys Asn Gly |
| 370 | 375 | 380 |
| Ala Phe Asp Pro Thr Thr Met | Gly Thr Val Pro Asn | Val Gly Leu Met |
| 385 | 390 | 395 |
| Ala Gln Lys Ala Glu Glu Tyr | Gly Ser His Asp Lys | Thr Phe Arg Ile |
| 405 | 410 | 415 |
| Glu Ala Asp Gly Lys Val Gln | Val Val Ala Ser Asn | Gly Asp Val Leu |
| 420 | 425 | 430 |
| Ile Glu His Asp Val Glu Lys | Gly Asp Ile Trp Arg | Ala Cys Gln Thr |
| 435 | 440 | 445 |
| Lys Asp Ala Pro Ile Gln Asp | Trp Val Lys Leu Ala | Val Asn Arg Ala |
| 450 | 455 | 460 |
| Arg Leu Ser Gly Met Pro Ala | Val Phe Trp Leu Asp | Pro Ala Arg Ala |
| 465 | 470 | 475 |
| His Asp Arg Asn Leu Thr Thr | Leu Val Glu Lys Tyr | Leu Ala Asp His |
| 485 | 490 | 495 |
| Asp Thr Glu Gly Leu Asp Ile | Gln Ile Leu Ser Pro | Val Glu Ala Thr |
| 500 | 505 | 510 |
| Gln His Ala Ile Asp Arg Ile | Arg Arg Gly Glu Asp | Thr Ile Ser Val |
| 515 | 520 | 525 |
| Thr Gly Asn Val Leu Arg Asp | Tyr Asn Thr Asp Leu | Phe Pro Ile Leu |
| 530 | 535 | 540 |
| Glu Leu Gly Thr Ser Ala Lys | Met Leu Ser Val Val | Pro Leu Met Ala |
| 545 | 550 | 555 |
| | | 560 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Gly Gly Gly Leu Phe Glu Thr Gly Ala Gly Gly Ser Ala Pro Lys His
 565 570 575
 Val Gln Gln Val Ile Glu Glu Asn His Leu Arg Trp Asp Ser Leu Gly
 580 585 590
 Glu Phe Leu Ala Leu Ala Glu Ser Phe Arg His Glu Leu Asn Thr Arg
 595 600 605
 Asn Asn Thr Lys Ala Gly Val Leu Ala Asp Ala Leu Asp Arg Ala Thr
 610 615 620
 Glu Lys Leu Leu Asn Glu Glu Lys Ser Pro Ser Arg Lys Val Gly Glu
 625 630 635 640
 Ile Asp Asn Arg Gly Ser His Phe Trp Leu Ala Thr Tyr Trp Ala Asp
 645 650 655
 Glu Leu Ala Asn Gln Thr Glu Asp Ala Glu Leu Ala Glu Thr Phe Ala
 660 665 670
 Pro Val Ala Glu Ala Leu Asn Asn Gln Ala Ala Asp Ile Asp Ala Ala
 675 680 685
 Leu Ile Gly Glu Gln Gly Lys Pro Val Asp Leu Gly Gly Tyr Tyr Ala
 690 695 700
 Pro Ser Asp Glu Lys Thr Ser Ala Ile Met Arg Pro Val Ala Ala Phe
 705 710 715 720
 Asn Glu Ile Ile Asp Ser Leu Lys Lys
 725

<210> 31

<211> 2322

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (806)..(2212)

<400> 31

ggtacccccca cgtaccctag gccatcacag caattttttac atcggtatatt ttaggtgtgc 60
 tcataacgtc cttatgaatt tcgcagttat tagttattta aatagagaat caaactccga 120
 cctagcctct gccgatgcta aaagtcagct gacccttgg ggcgcttcat ttgaaactgc 180
 gaccaagctc atgaatgcgc gaaagcattt ccattataag ggtaagctgt aagaatagtg 240
 ggagaaaatg ttcagtcgtg ttctaactca cttgagaaat tccatttttc tgggcttctc 300
 tcaaatagat taagtggccc gtatgctgga tttctagaat atttagaage gcgccaacte 360
 atgattatgt attgtataag cctcaaagac cgaatagatt actaacattt aagtggacca 420
 gagcgttaga agctttgtag agtgcctcatt ccttgctgac ggcaagggtt tctaccatg 480
 agatagatcg gcagatagtt ggtttgtaaa aatttttaag gacggtccgc aatgtcaatt 540
 cttgaacaga tcattcttct catcaacacc atcttgggtt atggtctgca cgctggttct 600

THIS PAGE BLANK (USPTO)

| | | | | | | |
|---|-------------------------------------|-------------------------------------|-----------------|---------------------|-------------|-----|
| tccgcttcca | gcaacctttc | tcacacgata | ggcctgttct | aggcctaatt | ggtaataagg | 660 |
| ctgtgttaaca | gtcgeccgcg | tgattgtgtc | tttttaggcg | cccgcgcggg | cgatttttcgg | 720 |
| ttttcatctt | ttttaaattg | agtttggaag | atcaagtgcc | cccggatgca | cgacaatgct | 780 |
| atgccgaaca | cgtattgttg | aaatc | gtg act gaa cat | tat gac gta gta gta | | 832 |
| | | Val Thr Glu His Tyr Asp Val Val Val | | | | |
| | | 1 | | 5 | | |
| ctc gga gct ggc ccc ggt ggc | tat gtc tcc gcc atc cgc gcc gcg cag | 880 | | | | |
| Leu Gly Ala Gly Pro Gly Gly Tyr Val Ser Ala Ile Arg Ala Ala Gln | | | | | | |
| 10 | 15 | 20 | 25 | | | |
| ctc ggt aag aaa gtt gcg gtt atc gag aag cag tac tgg gga ggt gtc | 928 | | | | | |
| Leu Gly Lys Lys Val Ala Val Ile Glu Lys Gln Tyr Trp Gly Gly Val | | | | | | |
| 30 | 35 | 40 | | | | |
| tgc ctg aat gtg ggt tgt atc cca tct aag gcg ttg atc aag aac gct | 976 | | | | | |
| Cys Leu Asn Val Gly Cys Ile Pro Ser Lys Ala Leu Ile Lys Asn Ala | | | | | | |
| 45 | 50 | 55 | | | | |
| gag atc gcc cac atc ttc aac cat gag aag aag acc ttc ggc atc aac | 1024 | | | | | |
| Glu Ile Ala His Ile Phe Asn His Glu Lys Lys Thr Phe Gly Ile Asn | | | | | | |
| 60 | 65 | 70 | | | | |
| ggc gag gtc acc ttc aac tac gag gat gcc cac aag cgt tcc cgt ggt | 1072 | | | | | |
| Gly Glu Val Thr Phe Asn Tyr Glu Asp Ala His Lys Arg Ser Arg Gly | | | | | | |
| 75 | 80 | 85 | | | | |
| gtc tcc gac aag atc gtc ggc ggt gtt cac tac ttg atg aag aag aac | 1120 | | | | | |
| Val Ser Asp Lys Ile Val Gly Gly Val His Tyr Leu Met Lys Lys Asn | | | | | | |
| 90 | 95 | 100 | 105 | | | |
| aag atc acc gag atc gac ggt ttc ggc acc ttc aag gat gcc aag acc | 1168 | | | | | |
| Lys Ile Thr Glu Ile Asp Gly Phe Gly Thr Phe Lys Asp Ala Lys Thr | | | | | | |
| 110 | 115 | 120 | | | | |
| atc gag gtg acc gat ggt aag gat gcc ggc aag acc gtc acc ttc gat | 1216 | | | | | |
| Ile Glu Val Thr Asp Gly Lys Asp Ala Gly Lys Thr Val Thr Phe Asp | | | | | | |
| 125 | 130 | 135 | | | | |
| gac tgc atc atc gcc acc ggt tcc gtg gtc aac tcc ctc cgt ggt gtt | 1264 | | | | | |
| Asp Cys Ile Ile Ala Thr Gly Ser Val Val Asn Ser Leu Arg Gly Val | | | | | | |
| 140 | 145 | 150 | | | | |
| gag ttc tcc gag aac gtg gtc tcc tac gag gag cag atc ctc aac ccg | 1312 | | | | | |
| Glu Phe Ser Glu Asn Val Val Ser Tyr Glu Glu Gln Ile Leu Asn Pro | | | | | | |
| 155 | 160 | 165 | | | | |
| gtg gcg cct aag aag atg gtc atc gtc ggt ggc ggc gcc atc ggt atg | 1360 | | | | | |
| Val Ala Pro Lys Lys Met Val Ile Val Gly Gly Gly Ala Ile Gly Met | | | | | | |
| 170 | 175 | 180 | 185 | | | |
| gaa ttc gcc tac gtt ctg ggc aac tac ggt gtg gac gta acc ctc atc | 1408 | | | | | |
| Glu Phe Ala Tyr Val Leu Gly Asn Tyr Gly Val Asp Val Thr Leu Ile | | | | | | |
| 190 | 195 | 200 | | | | |
| gag ttc atg gac cgc gtt ctg ccg aac gag gat cca gag gtg tcc aag | 1456 | | | | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

75/123

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| Glu | Phe | Met | Asp | Arg | Val | Leu | Pro | Asn | Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Ser | Lys | |
| | | | 205 | | | | | 210 | | | | | 215 | | | |
| gtt | atc | gcc | aag | gcc | tac | aag | aag | atg | ggc | atc | aag | ctc | ctc | ccg | ggc | 1504 |
| Val | Ile | Ala | Lys | Ala | Tyr | Lys | Lys | Met | Gly | Ile | Lys | Leu | Leu | Pro | Gly | |
| | | 220 | | | | | 225 | | | | | 230 | | | | |
| cac | gca | acc | acc | gcg | gtg | cgc | gac | aat | ggc | gat | tcc | gtt | gag | gtc | gat | 1552 |
| His | Ala | Thr | Thr | Ala | Val | Arg | Asp | Asn | Gly | Asp | Ser | Val | Glu | Val | Asp | |
| | | 235 | | | | 240 | | | | 245 | | | | | | |
| tac | cag | aag | aag | ggc | tcg | gac | aag | acc | gag | acc | atc | acc | gtc | gac | cgt | 1600 |
| Tyr | Gln | Lys | Lys | Gly | Ser | Asp | Lys | Thr | Glu | Thr | Ile | Thr | Val | Asp | Arg | |
| 250 | | | | | 255 | | | | 260 | | | | | | 265 | |
| gtt | ctt | atc | tcc | gtc | ggc | ttc | cgc | cca | cgc | gtc | gag | ggc | ttc | ggc | ctg | 1648 |
| Val | Leu | Ile | Ser | Val | Gly | Phe | Arg | Pro | Arg | Val | Glu | Gly | Phe | Gly | Leu | |
| | | | 270 | | | | | 275 | | | | | 280 | | | |
| gag | aac | acc | ggc | gtc | aag | ctc | acc | gaa | cgc | ggt | gcc | atc | gac | att | gat | 1696 |
| Glu | Asn | Thr | Gly | Val | Lys | Leu | Thr | Glu | Arg | Gly | Ala | Ile | Asp | Ile | Asp | |
| | | 285 | | | | | | 290 | | | | 295 | | | | |
| gag | cat | atg | cgc | acc | aac | gtc | gac | ggc | atc | tac | gcc | atc | ggt | gac | gtc | 1744 |
| Glu | His | Met | Arg | Thr | Asn | Val | Asp | Gly | Ile | Tyr | Ala | Ile | Gly | Asp | Val | |
| | | 300 | | | | 305 | | | | | 310 | | | | | |
| acc | gcc | aag | ctg | cag | ctg | gca | cac | gtc | gcc | gag | gca | cag | ggc | att | gtc | 1792 |
| Thr | Ala | Lys | Leu | Gln | Leu | Ala | His | Val | Ala | Glu | Ala | Gln | Gly | Ile | Val | |
| | | 315 | | | | 320 | | | | | 325 | | | | | |
| gcc | gcc | gag | aca | ctc | gcc | ggc | gca | gaa | acc | cag | acc | ctg | ggc | gac | tac | 1840 |
| Ala | Ala | Glu | Thr | Leu | Ala | Gly | Ala | Glu | Thr | Gln | Thr | Leu | Gly | Asp | Tyr | |
| 330 | | | | | 335 | | | | | 340 | | | | | 345 | |
| atg | atg | atg | ccg | cgt | gcc | acc | ttc | tgc | aac | cca | cag | gtt | gcc | tcc | ttc | 1888 |
| Met | Met | Met | Pro | Arg | Ala | Thr | Phe | Cys | Asn | Pro | Gln | Val | Ala | Ser | Phe | |
| | | | 350 | | | | | 355 | | | | | | 360 | | |
| ggt | tac | acc | gag | gag | cag | gcc | aag | gag | aag | tgg | ccg | gat | cga | gag | atc | 1936 |
| Gly | Tyr | Thr | Glu | Glu | Gln | Ala | Lys | Glu | Lys | Trp | Pro | Asp | Arg | Glu | Ile | |
| | | 365 | | | | | 370 | | | | | 375 | | | | |
| aag | gtg | tcc | tcc | ttc | ccg | ttc | tcc | gcg | aac | ggc | aag | gcc | gtc | ggc | ctg | 1984 |
| Lys | Val | Ser | Ser | Phe | Pro | Phe | Ser | Ala | Asn | Gly | Lys | Ala | Val | Gly | Leu | |
| | | 380 | | | | | 385 | | | | | 390 | | | | |
| gct | gag | acc | gat | ggt | ttc | gcc | aag | atc | gtc | gcc | gac | gct | gag | ttc | ggt | 2032 |
| Ala | Glu | Thr | Asp | Gly | Phe | Ala | Lys | Ile | Val | Ala | Asp | Ala | Glu | Phe | Gly | |
| | | 395 | | | | 400 | | | | | 405 | | | | | |
| gaa | ctg | ctg | ggt | ggc | cac | att | gtc | ggt | gcc | aac | gcc | tcc | gag | ctg | ctc | 2080 |
| Glu | Leu | Leu | Gly | Gly | His | Ile | Val | Gly | Ala | Asn | Ala | Ser | Glu | Leu | Leu | |
| 410 | | | | | 415 | | | | 420 | | | | | | 425 | |
| aac | gag | ctg | gtg | ctg | gcc | cag | aac | tgg | gat | ctc | acc | acc | gag | gag | atc | 2128 |
| Asn | Glu | Leu | Val | Leu | Ala | Gln | Asn | Trp | Asp | Leu | Thr | Thr | Glu | Glu | Ile | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

76/123

| | | | | |
|--|-----|-----|-----|------|
| | 430 | 435 | 440 | |
| agc cgc agc gtc cac atc cac ccg acc ctg tcg gag gct gtc aag gaa | | | | 2176 |
| Ser Arg Ser Val His Ile His Pro Thr Leu Ser Glu Ala Val Lys Glu | | | | |
| | 445 | 450 | 455 | |
| gct gcc cac ggc gtc aac ggc cac atg atc aac ttc taaatccgt | | | | 2222 |
| Ala Ala His Gly Val Asn Gly His Met Ile Asn Phe | | | | |
| | 460 | 465 | | |
| cagacaaatg caaatcccct caccgatggc atatcgggtga ggggattttc tcatgcacgt | | | | 2282 |
| aaaatcataa tccatggcaa ggaaagtcca caacagcgcc | | | | 2322 |

<210> 32

<211> 469

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 32

| | | | | |
|---|-----|-----|-----|-----|
| Val Thr Glu His Tyr Asp Val Val Val Leu Gly Ala Gly Pro Gly Gly | | | | |
| 1 | 5 | 10 | 15 | |
| Tyr Val Ser Ala Ile Arg Ala Ala Gln Leu Gly Lys Lys Val Ala Val | | | | |
| | 20 | 25 | 30 | |
| Ile Glu Lys Gln Tyr Trp Gly Gly Val Cys Leu Asn Val Gly Cys Ile | | | | |
| | 35 | 40 | 45 | |
| Pro Ser Lys Ala Leu Ile Lys Asn Ala Glu Ile Ala His Ile Phe Asn | | | | |
| | 50 | 55 | 60 | |
| His Glu Lys Lys Thr Phe Gly Ile Asn Gly Glu Val Thr Phe Asn Tyr | | | | |
| | 65 | 70 | 75 | 80 |
| Glu Asp Ala His Lys Arg Ser Arg Gly Val Ser Asp Lys Ile Val Gly | | | | |
| | 85 | 90 | 95 | |
| Gly Val His Tyr Leu Met Lys Lys Asn Lys Ile Thr Glu Ile Asp Gly | | | | |
| | 100 | 105 | 110 | |
| Phe Gly Thr Phe Lys Asp Ala Lys Thr Ile Glu Val Thr Asp Gly Lys | | | | |
| | 115 | 120 | 125 | |
| Asp Ala Gly Lys Thr Val Thr Phe Asp Asp Cys Ile Ile Ala Thr Gly | | | | |
| | 130 | 135 | 140 | |
| Ser Val Val Asn Ser Leu Arg Gly Val Glu Phe Ser Glu Asn Val Val | | | | |
| | 145 | 150 | 155 | 160 |
| Ser Tyr Glu Glu Gln Ile Leu Asn Pro Val Ala Pro Lys Lys Met Val | | | | |
| | 165 | 170 | 175 | |
| Ile Val Gly Gly Gly Ala Ile Gly Met Glu Phe Ala Tyr Val Leu Gly | | | | |
| | 180 | 185 | 190 | |
| Asn Tyr Gly Val Asp Val Thr Leu Ile Glu Phe Met Asp Arg Val Leu | | | | |
| | 195 | 200 | 205 | |
| Pro Asn Glu Asp Pro Glu Val Ser Lys Val Ile Ala Lys Ala Tyr Lys | | | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

77/123

| | | | | |
|---|-----|-----|-----|-----|
| 210 | | 215 | | 220 |
| Lys Met Gly Ile Lys Leu Leu Pro Gly His Ala Thr Thr Ala Val Arg | | | | |
| 225 | | 230 | | 240 |
| Asp Asn Gly Asp Ser Val Glu Val Asp Tyr Gln Lys Lys Gly Ser Asp | | | | |
| | 245 | | 250 | 255 |
| Lys Thr Glu Thr Ile Thr Val Asp Arg Val Leu Ile Ser Val Gly Phe | | | | |
| | 260 | | 265 | 270 |
| Arg Pro Arg Val Glu Gly Phe Gly Leu Glu Asn Thr Gly Val Lys Leu | | | | |
| | 275 | | 280 | 285 |
| Thr Glu Arg Gly Ala Ile Asp Ile Asp Glu His Met Arg Thr Asn Val | | | | |
| | 290 | | 295 | 300 |
| Asp Gly Ile Tyr Ala Ile Gly Asp Val Thr Ala Lys Leu Gln Leu Ala | | | | |
| 305 | | 310 | | 320 |
| His Val Ala Glu Ala Gln Gly Ile Val Ala Ala Glu Thr Leu Ala Gly | | | | |
| | 325 | | 330 | 335 |
| Ala Glu Thr Gln Thr Leu Gly Asp Tyr Met Met Met Pro Arg Ala Thr | | | | |
| | 340 | | 345 | 350 |
| Phe Cys Asn Pro Gln Val Ala Ser Phe Gly Tyr Thr Glu Glu Gln Ala | | | | |
| | 355 | | 360 | 365 |
| Lys Glu Lys Trp Pro Asp Arg Glu Ile Lys Val Ser Ser Phe Pro Phe | | | | |
| 370 | | 375 | | 380 |
| Ser Ala Asn Gly Lys Ala Val Gly Leu Ala Glu Thr Asp Gly Phe Ala | | | | |
| 385 | | 390 | | 400 |
| Lys Ile Val Ala Asp Ala Glu Phe Gly Glu Leu Leu Gly Gly His Ile | | | | |
| | 405 | | 410 | 415 |
| Val Gly Ala Asn Ala Ser Glu Leu Leu Asn Glu Leu Val Leu Ala Gln | | | | |
| | 420 | | 425 | 430 |
| Asn Trp Asp Leu Thr Thr Glu Glu Ile Ser Arg Ser Val His Ile His | | | | |
| | 435 | | 440 | 445 |
| Pro Thr Leu Ser Glu Ala Val Lys Glu Ala Ala His Gly Val Asn Gly | | | | |
| 450 | | 455 | | 460 |
| His Met Ile Asn Phe | | | | |
| 465 | | | | |

<210> 33

<211> 4096

<212> DNA

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<220>

<221> CDS

<222> (250)..(3951)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

```
ccggatcadc gtggttgacg ggggacgtat catcgaggat ggttcccacg atgaacttct 60
gggagcgaat ggaacctacg caacaatgtg gcatttagta gggtgacagg atatttttagg 120
aaagacttgt taccaaaaagg tgctaatact ggggtgctag gtccccgcga ccggaaccag 180
cgttacagtg gataaaataa agcccattta gaacctcaa caagcaagga aaagaggcga 240
gtacctgcc gtg agc agc gct agt act ttc ggc cag aac gcg tgg ctg gtg 291
```

1

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

70

75

80

85

90

95

10

10

11

11.

12

12

13

13

14

14

15

15

16

16

17

17

18

18

19

atg aac aac tcc tat gac atc gtc gac ggc aag ccg tcc ctg gtc gtc 867
Met Asn Asn Ser Tyr Asp Ile Val Asp Gly Lys Pro Ser Leu Val Val

THIS PAGE BLANK (USPTO)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

80/123

| | |
|---|------|
| tgg gat ctg gac cgt acc ttc cac gtc ggt ggt ttc ggt ggc aag gag | 1587 |
| Trp Asp Leu Asp Arg Thr Phe His Val Gly Gly Phe Gly Gly Lys Glu | |
| 435 440 445 | |
| acc atg acc ctg cgc gag gtg ctc agc cgc ctc cgc gcc gcc tac acc | 1635 |
| Thr Met Thr Leu Arg Glu Val Leu Ser Arg Leu Arg Ala Ala Tyr Thr | |
| 450 455 460 | |
| ctc aag gtc ggc tcc gag tac acc cac atc ctc gac cgc gat gag cgc | 1683 |
| Leu Lys Val Gly Ser Glu Tyr Thr His Ile Leu Asp Arg Asp Glu Arg | |
| 465 470 475 | |
| acc tgg ctg cag gac cgc ctc gag gcc ggt atg ccc aag ccc acc gcc | 1731 |
| Thr Trp Leu Gln Asp Arg Leu Glu Ala Gly Met Pro Lys Pro Thr Ala | |
| 480 485 490 | |
| gcc gag cag aag tac atc ctg cag aag ctc aac gcc gcc gag gca ttc | 1779 |
| Ala Glu Gln Lys Tyr Ile Leu Gln Lys Leu Asn Ala Ala Glu Ala Phe | |
| 495 500 505 510 | |
| gag aac ttc ctg cag acc aag tac gtc ggc cag aag cgt ttc tcc ctc | 1827 |
| Glu Asn Phe Leu Gln Thr Lys Tyr Val Gly Gln Lys Arg Phe Ser Leu | |
| 515 520 525 | |
| gag ggt gcc gag tca ctg atc cgc ctg atg gac tcc gcc atc gac acc | 1875 |
| Glu Gly Ala Glu Ser Leu Ile Pro Leu Met Asp Ser Ala Ile Asp Thr | |
| 530 535 540 | |
| gcc gca ggc cag ggc ctt gac gag gtc gtc atc ggc atg ccc cac cgt | 1923 |
| Ala Ala Gly Gln Gly Leu Asp Glu Val Val Ile Gly Met Pro His Arg | |
| 545 550 555 | |
| ggt cgc ctc aac gtg ctg ttc aac atc gtc ggc aag cca ctg gcc tcg | 1971 |
| Gly Arg Leu Asn Val Leu Phe Asn Ile Val Gly Lys Pro Leu Ala Ser | |
| 560 565 570 | |
| atc ttc aac gag ttc gag ggc cag atg gag cag ggc cag atc ggt ggc | 2019 |
| Ile Phe Asn Glu Phe Glu Gly Gln Met Glu Gln Gly Gln Ile Gly Gly | |
| 575 580 585 590 | |
| tcc ggt gac gtg aag tac cac ctc ggt tcc gag ggc acc cac ctg cag | 2067 |
| Ser Gly Asp Val Lys Tyr His Leu Gly Ser Glu Gly Thr His Leu Gln | |
| 595 600 605 | |
| atg ttc ggc gac ggc gag atc aag gtc tcc ctc acc gcc aac ccc tcc | 2115 |
| Met Phe Gly Asp Gly Glu Ile Lys Val Ser Leu Thr Ala Asn Pro Ser | |
| 610 615 620 | |
| cac ctc gag gcc gtc aac ccg gtc gtg gag ggc atc gtc cgc gcc aag | 2163 |
| His Leu Glu Ala Val Asn Pro Val Val Glu Gly Ile Val Arg Ala Lys | |
| 625 630 635 | |
| cag gac atc ctg gac aag ggc ccg gac ggc tac acc gtc gtc ccg ctg | 2211 |
| Gln Asp Ile Leu Asp Lys Gly Pro Asp Gly Tyr Thr Val Val Pro Leu | |
| 640 645 650 | |
| ctg ctc cac ggt gac gcc gcc ttc gcc ggc ctg ggc atc gtg ccc gag | 2259 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

81/123

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| Leu | Leu | His | Gly | Asp | Ala | Ala | Phe | Ala | Gly | Leu | Gly | Ile | Val | Pro | Glu | |
| 655 | | | | | 660 | | | | | 665 | | | | | 670 | |
| acc | atc | aac | ctc | gca | gcc | ctg | cgt | ggc | tac | gat | gtc | ggc | ggc | acc | atc | 2307 |
| Thr | Ile | Asn | Leu | Ala | Ala | Leu | Arg | Gly | Tyr | Asp | Val | Gly | Gly | Thr | Ile | |
| | | | | 675 | | | | 680 | | | | | | 685 | | |
| cac | atc | gtg | gtc | aac | aac | cag | atc | ggc | ttc | acc | acc | acc | ccg | gac | tcc | 2355 |
| His | Ile | Val | Val | Asn | Asn | Gln | Ile | Gly | Phe | Thr | Thr | Thr | Pro | Asp | Ser | |
| | | | 690 | | | | | 695 | | | | | 700 | | | |
| agc | cgt | tcc | atg | cac | tac | gcc | acc | gac | tgc | gcc | aag | gcc | ttc | ggc | tgc | 2403 |
| Ser | Arg | Ser | Met | His | Tyr | Ala | Thr | Asp | Cys | Ala | Lys | Ala | Phe | Gly | Cys | |
| | 705 | | | | | | 710 | | | | | 715 | | | | |
| ccg | gtg | ttc | cac | gtc | aac | ggc | gac | gac | ccc | gag | gct | gtg | gtc | tgg | gtc | 2451 |
| Pro | Val | Phe | His | Val | Asn | Gly | Asp | Asp | Pro | Glu | Ala | Val | Val | Trp | Val | |
| | 720 | | | | | 725 | | | | 730 | | | | | | |
| ggc | cag | ctg | gcc | acc | gag | tac | cgt | cgc | cgc | ttc | ggc | aag | gat | gtc | ttc | 2499 |
| Gly | Gln | Leu | Ala | Thr | Glu | Tyr | Arg | Arg | Arg | Phe | Gly | Lys | Asp | Val | Phe | |
| 735 | | | | | 740 | | | | | 745 | | | | 750 | | |
| atc | gac | ctc | atc | tgc | tac | cgc | ctg | cgc | ggc | cac | aac | gag | gct | gat | gac | 2547 |
| Ile | Asp | Leu | Ile | Cys | Tyr | Arg | Leu | Arg | Gly | His | Asn | Glu | Ala | Asp | Asp | |
| | | | | 755 | | | | 760 | | | | | | 765 | | |
| cca | tcc | atg | acc | cag | ccg | aag | atg | tac | gag | ctg | atc | acc | ggc | cgc | gac | 2595 |
| Pro | Ser | Met | Thr | Gln | Pro | Lys | Met | Tyr | Glu | Leu | Ile | Thr | Gly | Arg | Asp | |
| | | | 770 | | | | 775 | | | | | | 780 | | | |
| tcc | gtg | cgt | gcc | acc | tac | acc | gag | gac | ctc | ctc | ggc | cgt | ggc | gac | ctc | 2643 |
| Ser | Val | Arg | Ala | Thr | Tyr | Thr | Glu | Asp | Leu | Leu | Gly | Arg | Gly | Asp | Leu | |
| | | | 785 | | | | 790 | | | | | 795 | | | | |
| tcc | ccc | gag | gac | gcc | gag | gcc | gtt | gtc | cgc | gac | ttc | cac | gac | cag | atg | 2691 |
| Ser | Pro | Glu | Asp | Ala | Glu | Ala | Val | Val | Arg | Asp | Phe | His | Asp | Gln | Met | |
| | 800 | | | | | 805 | | | | | 810 | | | | | |
| gaa | tcc | gtg | ttc | aac | gag | gtc | aag | gaa | gcc | ggc | aag | aag | cag | cct | gat | 2739 |
| Glu | Ser | Val | Phe | Asn | Glu | Val | Lys | Glu | Ala | Gly | Lys | Lys | Gln | Pro | Asp | |
| 815 | | | | | 820 | | | | | 825 | | | | 830 | | |
| gag | cag | acc | ggc | atc | acc | ggc | tcc | cag | gaa | ctg | acc | cgt | ggc | ctg | gac | 2787 |
| Glu | Gln | Thr | Gly | Ile | Thr | Gly | Ser | Gln | Glu | Leu | Thr | Arg | Gly | Leu | Asp | |
| | | | | 835 | | | | 840 | | | | | | 845 | | |
| acc | aac | atc | acc | cgc | gag | gaa | ctg | gtc | gaa | ctc | ggc | cag | gcc | ttc | gtc | 2835 |
| Thr | Asn | Ile | Thr | Arg | Glu | Glu | Leu | Val | Glu | Leu | Gly | Gln | Ala | Phe | Val | |
| | | | 850 | | | | | 855 | | | | | 860 | | | |
| aac | acc | cca | gag | ggc | ttc | acc | tac | cac | cca | cgt | gtg | gca | ccg | gtg | gcc | 2883 |
| Asn | Thr | Pro | Glu | Gly | Phe | Thr | Tyr | His | Pro | Arg | Val | Ala | Pro | Val | Ala | |
| | | | 865 | | | | 870 | | | | | 875 | | | | |
| aag | aag | cgt | gcc | gag | tcc | gtc | acc | gag | ggc | atc | gac | tgg | gca | tgg | | 2931 |
| Lys | Lys | Arg | Ala | Glu | Ser | Val | Thr | Glu | Gly | Gly | Ile | Asp | Trp | Ala | Trp | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

| | | | |
|---|------|------|------|
| 880 | 885 | 890 | |
| ggc gag ctc atc gcc ttc ggc tcc ctg gcc acc tcc ggc agg ctg gtc | | | 2979 |
| Gly Glu Leu Ile Ala Phe Gly Ser Leu Ala Thr Ser Gly Arg Leu Val | | | |
| 895 | 900 | 905 | 910 |
| cgc ctc gcc ggt gag gat tcc cgc cgt ggt acc ttc acc cag cgt cac | | | 3027 |
| Arg Leu Ala Gly Glu Asp Ser Arg Arg Gly Thr Phe Thr Gln Arg His | | | |
| 915 | 920 | 925 | |
| gcc gtg gcc atc gac ccg aac acc gcc gag gag ttc aac ccg ctc cac | | | 3075 |
| Ala Val Ala Ile Asp Pro Asn Thr Ala Glu Glu Phe Asn Pro Leu His | | | |
| 930 | 935 | 940 | |
| gag ctg gca cag gcc aag ggc ggc ggc aag ttc ctc gtc tac aac tcc | | | 3123 |
| Glu Leu Ala Gln Ala Lys Gly Gly Gly Lys Phe Leu Val Tyr Asn Ser | | | |
| 945 | 950 | 955 | |
| gcg ctg acc gag tac gcg ggt atg ggc ttc gaa tac ggc tac tcc gtg | | | 3171 |
| Ala Leu Thr Glu Tyr Ala Gly Met Gly Phe Glu Tyr Gly Tyr Ser Val | | | |
| 960 | 965 | 970 | |
| ggc aac ccg gac gcc gtg gtg tcc tgg gag gca cag ttc ggt gac ttc | | | 3219 |
| Gly Asn Pro Asp Ala Val Val Ser Trp Glu Ala Gln Phe Gly Asp Phe | | | |
| 975 | 980 | 985 | 990 |
| gcc aac ggt gca cag acc atc atc gat gag tac atc tcc tcc ggt gag | | | 3267 |
| Ala Asn Gly Ala Gln Thr Ile Ile Asp Glu Tyr Ile Ser Ser Gly Glu | | | |
| 995 | 1000 | 1005 | |
| gcc aag tgg ggc cag acc tcc tcg gtc atc ctg ctg ctg ccc cac ggt | | | 3315 |
| Ala Lys Trp Gly Gln Thr Ser Ser Val Ile Leu Leu Leu Pro His Gly | | | |
| 1010 | 1015 | 1020 | |
| tac gag ggc cag ggt ccg gac cac tcc tcc gca cgc atc gag cgt ttc | | | 3363 |
| Tyr Glu Gly Gln Gly Pro Asp His Ser Ser Ala Arg Ile Glu Arg Phe | | | |
| 1025 | 1030 | 1035 | |
| ctg cag ctg tgc gcc gag ggt tcc atg acc atc gcc cag ccg acc acc | | | 3411 |
| Leu Gln Leu Cys Ala Glu Gly Ser Met Thr Ile Ala Gln Pro Thr Thr | | | |
| 1040 | 1045 | 1050 | |
| ccg gcg aac tac ttc cac ctg ctg cgt cgt cac gca ctg ggc aag atg | | | 3459 |
| Pro Ala Asn Tyr Phe His Leu Leu Arg Arg His Ala Leu Gly Lys Met | | | |
| 1055 | 1060 | 1065 | 1070 |
| aag cgc ccg ctg gtc gtc ttc acc ccg aag tcc atg ctg cgc aac aag | | | 3507 |
| Lys Arg Pro Leu Val Val Phe Thr Pro Lys Ser Met Leu Arg Asn Lys | | | |
| 1075 | 1080 | 1085 | |
| gcc gcc acc tcc gct ccg gag gag ttc acc gag gtc acc cgc ttc aag | | | 3555 |
| Ala Ala Thr Ser Ala Pro Glu Glu Phe Thr Glu Val Thr Arg Phe Lys | | | |
| 1090 | 1095 | 1100 | |
| tcc gtg atc gac gat ccg aac gtg gcg gat gcc tcc aag gtg aag aag | | | 3603 |
| Ser Val Ile Asp Asp Pro Asn Val Ala Asp Ala Ser Lys Val Lys Lys | | | |
| 1105 | 1110 | 1115 | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

83/123

```

atc atg ctg tgc tcc ggc aag atc tac tac gaa ctg gcc aag cgc aag 3651
Ile Met Leu Cys Ser Gly Lys Ile Tyr Tyr Glu Leu Ala Lys Arg Lys
1120 1125 1130
gag aag gac aac cgc gac gac atc gcg atc gtg cgc atc gag atg ctg 3699
Glu Lys Asp Asn Arg Asp Asp Ile Ala Ile Val Arg Ile Glu Met Leu
1135 1140 1145 1150
cac ccg atc ccg ttc aac cgt ctg cgc gac gcc ttc gac ggc tac ccc 3747
His Pro Ile Pro Phe Asn Arg Leu Arg Asp Ala Phe Asp Gly Tyr Pro
1155 1160 1165
aac gcc gag gag atc ctg ttc gtt cag gac gag ccg gca aac cag ggt 3795
Asn Ala Glu Glu Ile Leu Phe Val Gln Asp Glu Pro Ala Asn Gln Gly
1170 1175 1180
gcc tgg ccg ttc tac cag gag cac ctg ccc aac ctc atc gag ggc atg 3843
Ala Trp Pro Phe Tyr Gln Glu His Leu Pro Asn Leu Ile Glu Gly Met
1185 1190 1195
ctc ccg atg cgt cgc atc tcg cgc cgt tcc cag tcc tcg act gcg acc 3891
Leu Pro Met Arg Arg Ile Ser Arg Arg Ser Gln Ser Ser Thr Ala Thr
1200 1205 1210
ggt atc gcg aag gtg cac acc atc gag cag cag aag ctg ctg gat gat 3939
Gly Ile Ala Lys Val His Thr Ile Glu Gln Gln Lys Leu Leu Asp Asp
1215 1220 1225 1230
gcg ttc aac gca taaacgttaa tacagcggtt gataccttga accccgccgc 3991
Ala Phe Asn Ala
accctttaga tgcgggcggg gttttgcttt gcctgcatag gcgataatat tcatatacac 4051
ccatcacgtt taagttctgc atttgatcg tgcgagcate ccggt 4096

```

<210> 34

<211> 1234

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 34

```

Val Ser Ser Ala Ser Thr Phe Gly Gln Asn Ala Trp Leu Val Asp Glu
1 5 10 15
Met Phe Gln Gln Phe Lys Lys Asp Pro Gln Ser Val Asp Lys Glu Trp
20 25 30
Arg Glu Leu Phe Glu Ser Gln Gly Gly Pro Gln Ala Glu Lys Ala Thr
35 40 45
Pro Ala Thr Pro Glu Ala Lys Lys Ala Ala Ser Ser Gln Ser Ser Thr
50 55 60
Ser Gly Gln Ser Thr Ala Lys Ala Ala Pro Ala Ala Lys Thr Ala Pro
65 70 75 80
Ala Ser Ala Pro Ala Lys Ala Ala Pro Val Lys Gln Asn Gln Ala Ser

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

84/123

| 85 | | | | | | | | | | 90 | | | | | 95 | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|
| Lys | Pro | Ala | Lys | Lys | Ala | Lys | Glu | Ser | Pro | Leu | Ser | Lys | Pro | Ala | Ala | | | | |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | | | | |
| Met | Pro | Glu | Pro | Gly | Thr | Thr | Pro | Leu | Arg | Gly | Ile | Phe | Lys | Ser | Ile | | | | |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | | | | |
| Ala | Lys | Asn | Met | Asp | Leu | Ser | Leu | Glu | Val | Pro | Thr | Ala | Thr | Ser | Val | | | | |
| | | 130 | | | | 135 | | | | | 140 | | | | | | | | |
| Arg | Asp | Met | Pro | Ala | Arg | Leu | Met | Phe | Glu | Asn | Arg | Ala | Met | Val | Asn | | | | |
| 145 | | | | | 150 | | | | 155 | | | | | | 160 | | | | |
| Asp | Gln | Leu | Lys | Arg | Thr | Arg | Gly | Gly | Lys | Ile | Ser | Phe | Thr | His | Ile | | | | |
| | | | 165 | | | | | 170 | | | | | | 175 | | | | | |
| Ile | Gly | Tyr | Ala | Met | Val | Lys | Ala | Val | Met | Ala | His | Pro | Asp | Met | Asn | | | | |
| | | 180 | | | | | | 185 | | | | | 190 | | | | | | |
| Asn | Ser | Tyr | Asp | Ile | Val | Asp | Gly | Lys | Pro | Ser | Leu | Val | Val | Pro | Glu | | | | |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | | | | | |
| His | Ile | Asn | Leu | Gly | Leu | Ala | Ile | Asp | Leu | Pro | Gln | Lys | Asp | Gly | Ser | | | | |
| | 210 | | | | 215 | | | | | | 220 | | | | | | | | |
| Arg | Ala | Leu | Val | Val | Ala | Ala | Ile | Lys | Glu | Thr | Glu | Lys | Met | Thr | Phe | | | | |
| 225 | | | | | 230 | | | | 235 | | | | | | 240 | | | | |
| Ser | Gln | Phe | Leu | Glu | Ala | Tyr | Glu | Asp | Val | Val | Ala | Arg | Ser | Arg | Val | | | | |
| | | | 245 | | | | | 250 | | | | | | 255 | | | | | |
| Gly | Lys | Leu | Thr | Met | Asp | Asp | Tyr | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Ser | Leu | Thr | | | | |
| | | 260 | | | | | 265 | | | | | | 270 | | | | | | |
| Asn | Pro | Gly | Gly | Ile | Gly | Thr | Arg | His | Ser | Ile | Pro | Arg | Leu | Thr | Lys | | | | |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | | | | | |
| Gly | Gln | Gly | Thr | Ile | Ile | Gly | Val | Gly | Ser | Met | Asp | Tyr | Pro | Ala | Glu | | | | |
| | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | | | | | |
| Phe | Gln | Gly | Ala | Ser | Glu | Asp | Arg | Leu | Ala | Glu | Leu | Gly | Val | Gly | Lys | | | | |
| 305 | | | | | 310 | | | | 315 | | | | | | 320 | | | | |
| Leu | Val | Thr | Ile | Thr | Ser | Thr | Tyr | Asp | His | Arg | Val | Ile | Gln | Gly | Ala | | | | |
| | | | 325 | | | | | 330 | | | | | | 335 | | | | | |
| Glu | Ser | Gly | Glu | Phe | Leu | Arg | Thr | Met | Ser | Gln | Leu | Leu | Val | Asp | Asp | | | | |
| | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | | | | | | |
| Ala | Phe | Trp | Asp | His | Ile | Phe | Glu | Glu | Met | Asn | Val | Pro | Tyr | Thr | Pro | | | | |
| | 355 | | | | | | 360 | | | | | 365 | | | | | | | |
| Met | Arg | Trp | Ala | Gln | Asp | Leu | Pro | Asn | Thr | Gly | Val | Asp | Lys | Asn | Thr | | | | |
| | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | | | | | |
| Arg | Val | Met | Gln | Leu | Ile | Glu | Ala | Tyr | Arg | Ser | Arg | Gly | His | Leu | Ile | | | | |
| 385 | | | | | 390 | | | | 395 | | | | | | 400 | | | | |
| Ala | Asp | Thr | Asn | Pro | Leu | Pro | Trp | Val | Gln | Pro | Gly | Met | Pro | Val | Pro | | | | |
| | | | 405 | | | | | 410 | | | | | | 415 | | | | | |
| Asp | His | Arg | Asp | Leu | Asp | Ile | Glu | Thr | His | Gly | Leu | Thr | Leu | Trp | Asp | | | | |
| | | | 420 | | | | | 425 | | | | | | 430 | | | | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Asp | Arg | Thr | Phe | His | Val | Gly | Gly | Phe | Gly | Gly | Lys | Glu | Thr | Met |
| | | 435 | | | | | 440 | | | | | 445 | | | |
| Thr | Leu | Arg | Glu | Val | Leu | Ser | Arg | Leu | Arg | Ala | Ala | Tyr | Thr | Leu | Lys |
| | 450 | | | | | 455 | | | | | 460 | | | | |
| Val | Gly | Ser | Glu | Tyr | Thr | His | Ile | Leu | Asp | Arg | Asp | Glu | Arg | Thr | Trp |
| 465 | | | | | 470 | | | | | 475 | | | | | 480 |
| Leu | Gln | Asp | Arg | Leu | Glu | Ala | Gly | Met | Pro | Lys | Pro | Thr | Ala | Ala | Glu |
| | | | | 485 | | | | | 490 | | | | | | 495 |
| Gln | Lys | Tyr | Ile | Leu | Gln | Lys | Leu | Asn | Ala | Ala | Glu | Ala | Phe | Glu | Asn |
| | | | 500 | | | | 505 | | | | | | 510 | | |
| Phe | Leu | Gln | Thr | Lys | Tyr | Val | Gly | Gln | Lys | Arg | Phe | Ser | Leu | Glu | Gly |
| | | 515 | | | | | 520 | | | | | 525 | | | |
| Ala | Glu | Ser | Leu | Ile | Pro | Leu | Met | Asp | Ser | Ala | Ile | Asp | Thr | Ala | Ala |
| | 530 | | | | | 535 | | | | | 540 | | | | |
| Gly | Gln | Gly | Leu | Asp | Glu | Val | Val | Ile | Gly | Met | Pro | His | Arg | Gly | Arg |
| 545 | | | | | 550 | | | | | 555 | | | | | 560 |
| Leu | Asn | Val | Leu | Phe | Asn | Ile | Val | Gly | Lys | Pro | Leu | Ala | Ser | Ile | Phe |
| | | | | 565 | | | | | 570 | | | | | | 575 |
| Asn | Glu | Phe | Glu | Gly | Gln | Met | Glu | Gln | Gly | Gln | Ile | Gly | Gly | Ser | Gly |
| | | | 580 | | | | | 585 | | | | | 590 | | |
| Asp | Val | Lys | Tyr | His | Leu | Gly | Ser | Glu | Gly | Thr | His | Leu | Gln | Met | Phe |
| | | 595 | | | | | 600 | | | | | 605 | | | |
| Gly | Asp | Gly | Glu | Ile | Lys | Val | Ser | Leu | Thr | Ala | Asn | Pro | Ser | His | Leu |
| | 610 | | | | | 615 | | | | | 620 | | | | |
| Glu | Ala | Val | Asn | Pro | Val | Val | Glu | Gly | Ile | Val | Arg | Ala | Lys | Gln | Asp |
| 625 | | | | | 630 | | | | | 635 | | | | | 640 |
| Ile | Leu | Asp | Lys | Gly | Pro | Asp | Gly | Tyr | Thr | Val | Val | Pro | Leu | Leu | Leu |
| | | | | 645 | | | | | 650 | | | | | | 655 |
| His | Gly | Asp | Ala | Ala | Phe | Ala | Gly | Leu | Gly | Ile | Val | Pro | Glu | Thr | Ile |
| | | | 660 | | | | | 665 | | | | | 670 | | |
| Asn | Leu | Ala | Ala | Leu | Arg | Gly | Tyr | Asp | Val | Gly | Gly | Thr | Ile | His | Ile |
| | | 675 | | | | | 680 | | | | | 685 | | | |
| Val | Val | Asn | Asn | Gln | Ile | Gly | Phe | Thr | Thr | Thr | Pro | Asp | Ser | Ser | Arg |
| | 690 | | | | | 695 | | | | | 700 | | | | |
| Ser | Met | His | Tyr | Ala | Thr | Asp | Cys | Ala | Lys | Ala | Phe | Gly | Cys | Pro | Val |
| 705 | | | | | 710 | | | | | 715 | | | | | 720 |
| Phe | His | Val | Asn | Gly | Asp | Asp | Pro | Glu | Ala | Val | Val | Trp | Val | Gly | Gln |
| | | | | 725 | | | | | 730 | | | | | | 735 |
| Leu | Ala | Thr | Glu | Tyr | Arg | Arg | Arg | Phe | Gly | Lys | Asp | Val | Phe | Ile | Asp |
| | | | 740 | | | | | 745 | | | | | 750 | | |
| Leu | Ile | Cys | Tyr | Arg | Leu | Arg | Gly | His | Asn | Glu | Ala | Asp | Asp | Pro | Ser |
| | | 755 | | | | | 760 | | | | | 765 | | | |
| Met | Thr | Gln | Pro | Lys | Met | Tyr | Glu | Leu | Ile | Thr | Gly | Arg | Asp | Ser | Val |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

86/123

| | | |
|---|------|------|
| 770 | 775 | 780 |
| Arg Ala Thr Tyr Thr Glu Asp Leu Leu Gly Arg Gly Asp Leu Ser Pro | | |
| 785 | 790 | 795 |
| Glu Asp Ala Glu Ala Val Val Arg Asp Phe His Asp Gln Met Glu Ser | | 800 |
| | 805 | 810 |
| Val Phe Asn Glu Val Lys Glu Ala Gly Lys Lys Gln Pro Asp Glu Gln | | 815 |
| | 820 | 825 |
| Thr Gly Ile Thr Gly Ser Gln Glu Leu Thr Arg Gly Leu Asp Thr Asn | | 830 |
| | 835 | 840 |
| Ile Thr Arg Glu Glu Leu Val Glu Leu Gly Gln Ala Phe Val Asn Thr | | 845 |
| | 850 | 855 |
| Pro Glu Gly Phe Thr Tyr His Pro Arg Val Ala Pro Val Ala Lys Lys | | 860 |
| 865 | 870 | 875 |
| Arg Ala Glu Ser Val Thr Glu Gly Gly Ile Asp Trp Ala Trp Gly Glu | | 880 |
| | 885 | 890 |
| Leu Ile Ala Phe Gly Ser Leu Ala Thr Ser Gly Arg Leu Val Arg Leu | | 895 |
| | 900 | 905 |
| Ala Gly Glu Asp Ser Arg Arg Gly Thr Phe Thr Gln Arg His Ala Val | | 910 |
| | 915 | 920 |
| Ala Ile Asp Pro Asn Thr Ala Glu Glu Phe Asn Pro Leu His Glu Leu | | 925 |
| | 930 | 935 |
| Ala Gln Ala Lys Gly Gly Gly Lys Phe Leu Val Tyr Asn Ser Ala Leu | | 940 |
| 945 | 950 | 955 |
| Thr Glu Tyr Ala Gly Met Gly Phe Glu Tyr Gly Tyr Ser Val Gly Asn | | 960 |
| | 965 | 970 |
| Pro Asp Ala Val Val Ser Trp Glu Ala Gln Phe Gly Asp Phe Ala Asn | | 975 |
| | 980 | 985 |
| Gly Ala Gln Thr Ile Ile Asp Glu Tyr Ile Ser Ser Gly Glu Ala Lys | | 990 |
| | 995 | 1000 |
| Trp Gly Gln Thr Ser Ser Val Ile Leu Leu Leu Pro His Gly Tyr Glu | | 1005 |
| | 1010 | 1015 |
| Gly Gln Gly Pro Asp His Ser Ser Ala Arg Ile Glu Arg Phe Leu Gln | | 1020 |
| 025 | 1030 | 1035 |
| Leu Cys Ala Glu Gly Ser Met Thr Ile Ala Gln Pro Thr Thr Pro Ala | | 1040 |
| | 1045 | 1050 |
| Asn Tyr Phe His Leu Leu Arg Arg His Ala Leu Gly Lys Met Lys Arg | | 1055 |
| | 1060 | 1065 |
| Pro Leu Val Val Phe Thr Pro Lys Ser Met Leu Arg Asn Lys Ala Ala | | 1070 |
| | 1075 | 1080 |
| Thr Ser Ala Pro Glu Glu Phe Thr Glu Val Thr Arg Phe Lys Ser Val | | 1085 |
| | 1090 | 1095 |
| Ile Asp Asp Pro Asn Val Ala Asp Ala Ser Lys Val Lys Lys Ile Met | | 1100 |
| 105 | 1110 | 1115 |
| | | 1120 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

87/123

Leu Cys Ser Gly Lys Ile Tyr Tyr Glu Leu Ala Lys Arg Lys Glu Lys
 1125 1130 1135
 Asp Asn Arg Asp Asp Ile Ala Ile Val Arg Ile Glu Met Leu His Pro
 1140 1145 1150
 Ile Pro Phe Asn Arg Leu Arg Asp Ala Phe Asp Gly Tyr Pro Asn Ala
 1155 1160 1165
 Glu Glu Ile Leu Phe Val Gln Asp Glu Pro Ala Asn Gln Gly Ala Trp
 1170 1175 1180
 Pro Phe Tyr Gln Glu His Leu Pro Asn Leu Ile Glu Gly Met Leu Pro
 185 1190 1195 1200
 Met Arg Arg Ile Ser Arg Arg Ser Gln Ser Ser Thr Ala Thr Gly Ile
 1205 1210 1215
 Ala Lys Val His Thr Ile Glu Gln Gln Lys Leu Leu Asp Asp Ala Phe
 1220 1225 1230
 Asn Ala

<210> 35

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for aceA

<400> 35

cctctaccca gcgaactccg

20

<210> 36

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for aceA

<400> 36

ctgccttgaa ctcacggttc

20

<210> 37

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for accBC

<400> 37

catccacccc ggctacggct

20

<210> 38

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for accBC

<400> 38

cggtgactgg gtgttcacc

20

<210> 39

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for dtsR1

<400> 39

acggcccagc cctgaccgac

20

<210> 40

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for dtsR1

<400> 40

agcagcgccc atgacggcga

20

<210> 41

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for dtsR2

<400> 41

acggcccagc cctgaccgac

20

<210> 42

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for dtsR2

<400> 42

agcagcgccc atgacggcga

20

<210> 43

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for pfk

<400> 43

cgtcatccga ggaatcgtec

20

<210> 44

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for pfk

<400> 44

cgtggcggcc catgacctcc

21

<210> 45

<211> 17

<212> DNA

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for scrB

<220>

<221> UNSURE

<222> (3)

<223> n=a or g or c or t

<400> 45

ggncghytba aygaycc

17

<210> 46

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for scrB

<220>

<221> UNSURE

<222> (18)

<223> n=a or g or c or t

<400> 46

ggrcaytccc acatrtance

20

<210> 47

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for gluABCD

<400> 47

ccatccggat ccggcaagtc

20

<210> 48

<211> 20

<212> DNA

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for gluABCD

<400> 48

aatcccatct cgtgggtaac

20

<210> 49

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for pdhA

<400> 49

actgtgtcca tgggtcttgg ccc

23

<210> 50

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for pdhA

<400> 50

cgctggaatccgaacatcga

20

<210> 51

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for pc

<400> 51

ggcgcaacct acgacgttgc aatgcg

26

<210> 52

<211> 20

THIS PAGE BLANK (USPTO)

92/123

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for pc

<400> 52

tggccgcctg ggatctcgtg

20

<210> 53

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for ppc

<400> 53

ggttcctgga ttggtggaga

20

<210> 54

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for ppc

<400> 54

ccgccatcct tgttgaatc

20

<210> 55

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for acn

<220>

<221> UNSURE

<222> (3,6,9)

<223> n=inosine

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<400> 55
gtnggnacng aytcsatac 20

<210> 56
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer for acn

<220>
<221> UNSURE
<222> (3,9,18)
<223> n=inosine

<400> 56
gcnggagana tgtgrtcngt 20

<210> 57
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer for icd

<400> 57
gacatttcac tcgctggacg 20

<210> 58
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer for icd

<400> 58
ccgtactctt cagccttctg 20

<210> 59

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for lpd

<400> 59

atcatcgcaa ccggttc

17

<210> 60

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for lpd

<400> 60

cgtcaccgat ggcgtaaat

19

<210> 61

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for odhA

<400> 61

acaccgtggt cgcctcaacg

20

<210> 62

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for odhA

<400> 62

tgctaaccg tcccacctgg

20

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<210> 63

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
screening PCR of lpd

<400> 63

tacgaggagc agatcctcaa

20

<210> 64

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
screening PCR of lpd

<400> 64

ttgacgccgg tggttctccag

20

<210> 65

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of acn

<400> 65

ggtgaagcta agtagttagc

20

<210> 66

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for

THIS PAGE BLANK (USPTO)

96/123

LA cloning of acn

<400> 66

agctactaaa cctgcacc

18

<210> 67

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of icd

<400> 67

ccgtactctt cagccttctg

67

<210> 68

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of icd

<400> 68

tcgtccttgt tccacatc

18

<210> 69

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of lpd

<400> 69

atcatcgcaa ccggttc

17

<210> 70

<211> 20

THIS PAGE BLANK (USPTO)

97/123

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of lpd

<400> 70

tacgaggagc agatcctcaa

20

<210> 71

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of acn

<400> 71

gctaactact tagcttcacc

20

<210> 72

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of acn

<400> 72

gaaccaggaa ctattgaacc

20

<210> 73

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of icd

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<400> 73
tccgatgtca tcatcgac 18

<210> 74
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of icd

<400> 74
atgtggaaca aggacgac 18

<210> 75
<211> 35
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of odhA

<400> 75
gtacatattg tcgtagaac gcgtaatacg actca 35

<210> 76
<211> 35
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of odhA

<400> 76
cgtagaacg cgtaatacga ctactatag ggaga 35

<210> 77
<211> 32
<212> DNA

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gdh gene

<400> 77

gcgcctgcag gtccgagggt gtgcgttcgg ca

32

<210> 78

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gdh gene

<400> 78

gcgcctgcag ccaccagga tgccctcaacc ag

32

<210> 79

<211> 1344

<212> DNA

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1341)

<400> 79

atg act gta gat gag cag gtc tcc aac tac tac gac atg ctg ctg aag 48

Met Thr Val Asp Glu Gln Val Ser Asn Tyr Tyr Asp Met Leu Leu Lys

1

5

10

15

cgc aac gcc ggg gaa cct gag ttc cac cag gct gtc gcg gag gtt ctc 96

Arg Asn Ala Gly Glu Pro Glu Phe His Gln Ala Val Ala Glu Val Leu

20

25

30

gaa tct ctg aag atc gtc ctg gag aag gac ccg cac tac gcc gac tac 144

Glu Ser Leu Lys Ile Val Leu Glu Lys Asp Pro His Tyr Ala Asp Tyr

35

40

45

ggg ctg atc cag cgt ctc tgc gaa ccg gaa cgc cag ctg atc ttc cgt 192

THIS PAGE BLANK (USPTO)

100/123

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Leu | Ile | Gln | Arg | Leu | Cys | Glu | Pro | Glu | Arg | Gln | Leu | Ile | Phe | Arg | |
| 50 | | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | | |
| gtg | ccc | tgg | gtg | gat | gac | aac | ggg | cag | gtg | cac | gtc | aac | cgt | ggg | ttc | 240 |
| Val | Pro | Trp | Val | Asp | Asp | Asn | Gly | Gln | Val | His | Val | Asn | Arg | Gly | Phe | |
| 65 | | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | 80 | |
| cgt | gtc | cag | ttc | aac | tcc | gca | ctc | ggc | cgg | tac | aag | ggg | ggg | ctg | cgt | 288 |
| Arg | Val | Gln | Phe | Asn | Ser | Ala | Leu | Gly | Pro | Tyr | Lys | Gly | Gly | Leu | Arg | |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | |
| ttc | cac | ccc | tcc | gtc | aac | ctc | ggc | atc | gtc | aag | ttc | ctc | ggc | ttc | gag | 336 |
| Phe | His | Pro | Ser | Val | Asn | Leu | Gly | Ile | Val | Lys | Phe | Leu | Gly | Phe | Glu | |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | |
| cag | atc | ttc | aag | aac | tcc | ctc | acc | ggg | ctg | cgg | atc | ggg | ggc | ggc | aag | 384 |
| Gln | Ile | Phe | Lys | Asn | Ser | Leu | Thr | Gly | Leu | Pro | Ile | Gly | Gly | Gly | Lys | |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | |
| ggg | ggg | tcc | gac | ttc | gac | cgg | aag | ggc | aag | tcc | gag | ctg | gag | atc | atg | 432 |
| Gly | Gly | Ser | Asp | Phe | Asp | Pro | Lys | Gly | Lys | Ser | Glu | Leu | Glu | Ile | Met | |
| 130 | | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | | |
| cgc | ttc | tgc | cag | tcc | ttc | atg | acc | gag | ctg | cac | cgc | cac | atc | ggc | gag | 480 |
| Arg | Phe | Cys | Gln | Ser | Phe | Met | Thr | Glu | Leu | His | Arg | His | Ile | Gly | Glu | |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | 160 | | |
| tac | cgg | gat | gtc | cgg | gcc | ggg | gac | atc | gga | gtc | ggg | ggc | cgc | gag | atc | 528 |
| Tyr | Arg | Asp | Val | Pro | Ala | Gly | Asp | Ile | Gly | Val | Gly | Gly | Arg | Glu | Ile | |
| | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | | | |
| ggg | tac | ctc | ttc | ggc | cac | tac | cgc | cgt | ctg | gcc | aac | cag | cac | gag | tcc | 576 |
| Gly | Tyr | Leu | Phe | Gly | His | Tyr | Arg | Arg | Leu | Ala | Asn | Gln | His | Glu | Ser | |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | | |
| ggg | gtg | ctc | acc | ggc | aag | ggc | ctg | acc | tgg | ggg | ggg | tcc | ctg | gtc | cgc | 624 |
| Gly | Val | Leu | Thr | Gly | Lys | Gly | Leu | Thr | Trp | Gly | Gly | Ser | Leu | Val | Arg | |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | | |
| acc | gag | gcc | acc | ggc | ttc | ggc | acc | gtc | tac | ttc | gtc | cag | gag | atg | atc | 672 |
| Thr | Glu | Ala | Thr | Gly | Phe | Gly | Thr | Val | Tyr | Phe | Val | Gln | Glu | Met | Ile | |
| | | 210 | | | | 215 | | | | | 220 | | | | | |
| aag | cgc | gaa | ggg | gag | acc | ctc | gag | ggc | aag | aag | gtc | atc | gtc | tcc | ggg | 720 |
| Lys | Ala | Glu | Gly | Glu | Thr | Leu | Glu | Gly | Lys | Lys | Val | Ile | Val | Ser | Gly | |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | 240 | | |
| tcc | ggc | aac | gtg | gcc | acc | tac | gcc | atc | cag | aag | gtg | cag | gaa | ctg | ggg | 768 |
| Ser | Gly | Asn | Val | Ala | Thr | Tyr | Ala | Ile | Gln | Lys | Val | Gln | Glu | Leu | Gly | |
| | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | | | |
| cgc | gtt | gtg | gtc | ggc | ttc | tcc | gac | tcc | agc | ggc | tgg | gtc | tcc | acc | cgg | 816 |
| Ala | Val | Val | Val | Gly | Phe | Ser | Asp | Ser | Ser | Gly | Trp | Val | Ser | Thr | Pro | |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | | |
| aac | ggg | gtt | gac | gtg | gcc | aag | ctg | cgt | gag | atc | aag | gag | gtc | cgt | cgt | 864 |
| Asn | Gly | Val | Asp | Val | Ala | Lys | Leu | Arg | Glu | Ile | Lys | Glu | Val | Arg | Arg | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

101/123

| 275 | | | | | | 280 | | | | | | 285 | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|--|-----|
| gca | cgc | gtg | tcc | tcc | tac | gcc | gac | gag | gtg | gag | ggt | gcg | gag | tac | cac | 912 | | |
| Ala | Arg | Val | Ser | Ser | Tyr | Ala | Asp | Glu | Val | Glu | Gly | Ala | Glu | Tyr | His | | | |
| 290 | | | | | | 295 | | | | | | 300 | | | | | | |
| acc | gac | ggc | tcc | atc | tgg | gat | ctg | acc | gcc | gac | atc | gcg | ctg | ccc | tgc | 960 | | |
| Thr | Asp | Gly | Ser | Ile | Trp | Asp | Leu | Thr | Ala | Asp | Ile | Ala | Leu | Pro | Cys | | | |
| 305 | | | | | | 310 | | | | | | 315 | | | | | | 320 |
| gcc | acc | cag | aac | gaa | ctg | gac | ggc | gac | aac | gcc | cgc | acc | ctc | gcg | gac | 1008 | | |
| Ala | Thr | Gln | Asn | Glu | Leu | Asp | Gly | Asp | Asn | Ala | Arg | Thr | Leu | Ala | Asp | | | |
| 325 | | | | | | 330 | | | | | | 335 | | | | | | |
| aac | ggc | tgc | cgc | ttc | gtg | gcg | gag | ggc | gcc | aac | atg | ccc | tcc | acc | ccc | 1056 | | |
| Asn | Gly | Cys | Arg | Phe | Val | Ala | Glu | Gly | Ala | Asn | Met | Pro | Ser | Thr | Pro | | | |
| 340 | | | | | | 345 | | | | | | 350 | | | | | | |
| gag | gcc | atc | gac | gtc | ttc | cgt | gag | cgt | ggt | gtt | ctc | ttc | ggg | ccg | ggc | 1104 | | |
| Glu | Ala | Ile | Asp | Val | Phe | Arg | Glu | Arg | Gly | Val | Leu | Phe | Gly | Pro | Gly | | | |
| 355 | | | | | | 360 | | | | | | 365 | | | | | | |
| aag | gct | gcc | aac | gcc | ggt | ggc | gtg | gcc | acc | tcc | gcc | ctg | gag | atg | cag | 1152 | | |
| Lys | Ala | Ala | Asn | Ala | Gly | Gly | Val | Ala | Thr | Ser | Ala | Leu | Glu | Met | Gln | | | |
| 370 | | | | | | 375 | | | | | | 380 | | | | | | |
| cag | aac | gcc | tcc | cgt | gat | tcc | tgg | agc | ttc | gag | tac | acc | gat | gag | cgt | 1200 | | |
| Gln | Asn | Ala | Ser | Arg | Asp | Ser | Trp | Ser | Phe | Glu | Tyr | Thr | Asp | Glu | Arg | | | |
| 385 | | | | | | 390 | | | | | | 395 | | | | | | 400 |
| ctc | cac | cgc | atc | atg | aag | aac | atc | ttc | aag | tcc | tgc | gcc | gat | acc | gcc | 1248 | | |
| Leu | His | Arg | Ile | Met | Lys | Asn | Ile | Phe | Lys | Ser | Cys | Ala | Asp | Thr | Ala | | | |
| 405 | | | | | | 410 | | | | | | 415 | | | | | | |
| aag | gag | tac | ggc | cac | gag | aag | aac | tac | gtg | gtc | ggt | gcg | aac | atc | gcc | 1296 | | |
| Lys | Glu | Tyr | Gly | His | Glu | Lys | Asn | Tyr | Val | Val | Gly | Ala | Asn | Ile | Ala | | | |
| 420 | | | | | | 425 | | | | | | 430 | | | | | | |
| gga | ttc | aag | aag | gtc | gct | gac | gcc | atg | ctc | gcc | cag | ggt | gtc | atc | taa | 1344 | | |
| Gly | Phe | Lys | Lys | Val | Ala | Asp | Ala | Met | Leu | Ala | Gln | Gly | Val | Ile | | | | |
| 435 | | | | | | 440 | | | | | | 445 | | | | | | |

<210> 80

<211> 447

<212> PRT

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<400> 80

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Thr | Val | Asp | Glu | Gln | Val | Ser | Asn | Tyr | Tyr | Asp | Met | Leu | Leu | Lys |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | 15 | | |
| Arg | Asn | Ala | Gly | Glu | Pro | Glu | Phe | His | Gln | Ala | Val | Ala | Glu | Val | Leu |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Glu | Ser | Leu | Lys | Ile | Val | Leu | Glu | Lys | Asp | Pro | His | Tyr | Ala | Asp | Tyr |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

102/123

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | | | | |
| Gly | Leu | Ile | Gln | Arg | Leu | Cys | Glu | Pro | Glu | Arg | Gln | Leu | Ile | Phe | Arg | |
| 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | | | |
| Val | Pro | Trp | Val | Asp | Asp | Asn | Gly | Gln | Val | His | Val | Asn | Arg | Gly | Phe | |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 | |
| Arg | Val | Gln | Phe | Asn | Ser | Ala | Leu | Gly | Pro | Tyr | Lys | Gly | Gly | Leu | Arg | |
| 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | | | | | |
| Phe | His | Pro | Ser | Val | Asn | Leu | Gly | Ile | Val | Lys | Phe | Leu | Gly | Phe | Glu | |
| 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | | | | |
| Gln | Ile | Phe | Lys | Asn | Ser | Leu | Thr | Gly | Leu | Pro | Ile | Gly | Gly | Gly | Lys | |
| 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | | | |
| Gly | Gly | Ser | Asp | Phe | Asp | Pro | Lys | Gly | Lys | Ser | Glu | Leu | Glu | Ile | Met | |
| 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | | | |
| Arg | Phe | Cys | Gln | Ser | Phe | Met | Thr | Glu | Leu | His | Arg | His | Ile | Gly | Glu | |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 | |
| Tyr | Arg | Asp | Val | Pro | Ala | Gly | Asp | Ile | Gly | Val | Gly | Gly | Arg | Glu | Ile | |
| 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | | | | | | |
| Gly | Tyr | Leu | Phe | Gly | His | Tyr | Arg | Arg | Leu | Ala | Asn | Gln | His | Glu | Ser | |
| 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | | | | | |
| Gly | Val | Leu | Thr | Gly | Lys | Gly | Leu | Thr | Trp | Gly | Gly | Ser | Leu | Val | Arg | |
| 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | | | | |
| Thr | Glu | Ala | Thr | Gly | Phe | Gly | Thr | Val | Tyr | Phe | Val | Gln | Glu | Met | Ile | |
| 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | | | |
| Lys | Ala | Glu | Gly | Glu | Thr | Leu | Glu | Gly | Lys | Lys | Val | Ile | Val | Ser | Gly | |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 | |
| Ser | Gly | Asn | Val | Ala | Thr | Tyr | Ala | Ile | Gln | Lys | Val | Gln | Glu | Leu | Gly | |
| 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | | | | | | |
| Ala | Val | Val | Val | Gly | Phe | Ser | Asp | Ser | Ser | Gly | Trp | Val | Ser | Thr | Pro | |
| 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | | | | | |
| Asn | Gly | Val | Asp | Val | Ala | Lys | Leu | Arg | Glu | Ile | Lys | Glu | Val | Arg | Arg | |
| 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | | | | |
| Ala | Arg | Val | Ser | Ser | Tyr | Ala | Asp | Glu | Val | Glu | Gly | Ala | Glu | Tyr | His | |
| 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | | | |
| Thr | Asp | Gly | Ser | Ile | Trp | Asp | Leu | Thr | Ala | Asp | Ile | Ala | Leu | Pro | Cys | |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 | |
| Ala | Thr | Gln | Asn | Glu | Leu | Asp | Gly | Asp | Asn | Ala | Arg | Thr | Leu | Ala | Asp | |
| 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | | | | | | |
| Asn | Gly | Cys | Arg | Phe | Val | Ala | Glu | Gly | Ala | Asn | Met | Pro | Ser | Thr | Pro | |
| 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | | | | | |
| Glu | Ala | Ile | Asp | Val | Phe | Arg | Glu | Arg | Gly | Val | Leu | Phe | Gly | Pro | Gly | |
| 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | | | | |
| Lys | Ala | Ala | Asn | Ala | Gly | Gly | Val | Ala | Thr | Ser | Ala | Leu | Glu | Met | Gln | |
| 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

103/123

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Asn | Ala | Ser | Arg | Asp | Ser | Trp | Ser | Phe | Glu | Tyr | Thr | Asp | Glu | Arg |
| 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 |
| Leu | His | Arg | Ile | Met | Lys | Asn | Ile | Phe | Lys | Ser | Cys | Ala | Asp | Thr | Ala |
| | | | | 405 | | | | | 410 | | | | | 415 | |
| Lys | Glu | Tyr | Gly | His | Glu | Lys | Asn | Tyr | Val | Val | Gly | Ala | Asn | Ile | Ala |
| | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | |
| Gly | Phe | Lys | Lys | Val | Ala | Asp | Ala | Met | Leu | Ala | Gln | Gly | Val | Ile | |
| | | 435 | | | | | 440 | | | | | 445 | | | |

<210> 81

<211> 1344

<212> DNA

<213> Brevibacterium lactofermentum

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1341)

<400> 81

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| atg | aca | gtt | gat | gag | cag | gtc | tct | aac | tat | tac | gac | atg | ctt | ctg | aag | 48 |
| Met | Thr | Val | Asp | Glu | Gln | Val | Ser | Asn | Tyr | Tyr | Asp | Met | Leu | Leu | Lys | |
| 1 | | | | 5 | | | | 10 | | | | | 15 | | | |
| cgc | aat | gct | ggc | gag | cct | gaa | ttt | cac | cag | gca | gtg | gca | gag | gtt | ttg | 96 |
| Arg | Asn | Ala | Gly | Glu | Pro | Glu | Phe | His | Gln | Ala | Val | Ala | Glu | Val | Leu | |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | | |
| gaa | tct | ttg | aag | atc | gtc | ctg | gaa | aag | gac | cct | cat | tac | gct | gat | tac | 144 |
| Glu | Ser | Leu | Lys | Ile | Val | Leu | Glu | Lys | Asp | Pro | His | Tyr | Ala | Asp | Tyr | |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | | |
| ggt | ctc | atc | cag | cgc | ctg | tgc | gag | cct | gag | cgt | cag | ctc | atc | ttc | cgt | 192 |
| Gly | Leu | Ile | Gln | Arg | Leu | Cys | Glu | Pro | Glu | Arg | Gln | Leu | Ile | Phe | Arg | |
| | | 50 | | | | 55 | | | | | 60 | | | | | |
| gtg | cct | tgg | gtt | gat | gac | cag | ggc | cag | gtc | cac | gtc | aac | cgt | ggt | ttc | 240 |
| Val | Pro | Trp | Val | Asp | Asp | Gln | Gly | Gln | Val | His | Val | Asn | Arg | Gly | Phe | |
| | | 65 | | | 70 | | | | 75 | | | | 80 | | | |
| cgc | gtg | cag | ttc | aac | tct | gca | ctt | gga | cca | tac | aag | ggc | ggc | ctg | cgc | 288 |
| Arg | Val | Gln | Phe | Asn | Ser | Ala | Leu | Gly | Pro | Tyr | Lys | Gly | Gly | Leu | Arg | |
| | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | | |
| ttc | cac | cca | tct | gta | aac | ctg | ggc | att | gtg | aag | ttc | ctg | ggc | ttt | gag | 336 |
| Phe | His | Pro | Ser | Val | Asn | Leu | Gly | Ile | Val | Lys | Phe | Leu | Gly | Phe | Glu | |
| | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | | |
| cag | atc | ttt | aaa | aac | tcc | cta | acc | ggc | ctg | cca | atc | ggt | ggt | ggc | aag | 384 |
| Gln | Ile | Phe | Lys | Asn | Ser | Leu | Thr | Gly | Leu | Pro | Ile | Gly | Gly | Gly | Lys | |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | |

#115 PAGE BLANK (USPTO)

104/123

| | |
|---|------|
| ggt gga tcc gac ttc gac cct aag ggc aag tcc gat ctg gaa atc atg | 432 |
| Gly Gly Ser Asp Phe Asp Pro Lys Gly Lys Ser Asp Leu Glu Ile Met | |
| 130 135 140 | |
| cgt ttc tgc cag tcc ttc atg acc gag ctg cac cgc cac atc ggt gag | 480 |
| Arg Phe Cys Gln Ser Phe Met Thr Glu Leu His Arg His Ile Gly Glu | |
| 145 150 155 160 | |
| tac cgc gac gtt cct gca ggt gac atc gga gtt ggt ggc cgc gag atc | 528 |
| Tyr Arg Asp Val Pro Ala Gly Asp Ile Gly Val Gly Gly Arg Glu Ile | |
| 165 170 175 | |
| ggt tac ctg ttt ggc cac tac cgt cgc atg gct aac cag cac gag tcc | 576 |
| Gly Tyr Leu Phe Gly His Tyr Arg Arg Met Ala Asn Gln His Glu Ser | |
| 180 185 190 | |
| ggc gtt ttg acc ggt aag ggc ctg acc tgg ggt gga tcc ctg gtc cgc | 624 |
| Gly Val Leu Thr Gly Lys Gly Leu Thr Trp Gly Gly Ser Leu Val Arg | |
| 195 200 205 | |
| acc gag gca act ggc tac ggc tgc gtt tac ttc gtg agt gaa atg atc | 672 |
| Thr Glu Ala Thr Gly Tyr Gly Cys Val Tyr Phe Val Ser Glu Met Ile | |
| 210 215 220 | |
| aag gct aag ggc gag agc atc agc ggc cag aag atc atc gtt tcc ggt | 720 |
| Lys Ala Lys Gly Glu Ser Ile Ser Gly Gln Lys Ile Ile Val Ser Gly | |
| 225 230 235 240 | |
| tcc ggc aac gta gca acc tac gcg att gaa aag gct cag gaa ctc ggc | 768 |
| Ser Gly Asn Val Ala Thr Tyr Ala Ile Glu Lys Ala Gln Glu Leu Gly | |
| 245 250 255 | |
| gca acc gtt att ggt ttc tcc gat tcc agc ggt tgg gtt cat acc cct | 816 |
| Ala Thr Val Ile Gly Phe Ser Asp Ser Ser Gly Trp Val His Thr Pro | |
| 260 265 270 | |
| aac ggc gtt gac gtg gct aag ctc cgc gaa atc aag gaa gtt cgc cgc | 864 |
| Asn Gly Val Asp Val Ala Lys Leu Arg Glu Ile Lys Glu Val Arg Arg | |
| 275 280 285 | |
| gca cgc gta tcc gtg tac gcc gac gaa att gaa ggc gca acc tac cac | 912 |
| Ala Arg Val Ser Val Tyr Ala Asp Glu Ile Glu Gly Ala Thr Tyr His | |
| 290 295 300 | |
| acc gac ggt tcc atc tgg gat ctc aag tgc gat atc gct ctt cct tgt | 960 |
| Thr Asp Gly Ser Ile Trp Asp Leu Lys Cys Asp Ile Ala Leu Pro Cys | |
| 305 310 315 320 | |
| gca act cag aac gag ctc aac ggc gag aac gct aag act ctt gca gac | 1008 |
| Ala Thr Gln Asn Glu Leu Asn Gly Glu Asn Ala Lys Thr Leu Ala Asp | |
| 325 330 335 | |
| aac ggc tgc cgt ttc gtt gct gaa ggc gcg aac atg cct tcc acc cct | 1056 |
| Asn Gly Cys Arg Phe Val Ala Glu Gly Ala Asn Met Pro Ser Thr Pro | |
| 340 345 350 | |
| gag gct gtt gag gtc ttc cgt gag cgc gac atc cgc ttc gga cca ggc | 1104 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

105/123

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|--|
| Glu | Ala | Val | Glu | Val | Phe | Arg | Glu | Arg | Asp | Ile | Arg | Phe | Gly | Pro | Gly | | |
| | 355 | | | | | | 360 | | | | | 365 | | | | | |
| aag | gca | gct | aac | gct | ggt | ggc | gtt | gca | acc | tcc | gct | ctg | gag | atg | cag | 1152 | |
| Lys | Ala | Ala | Asn | Ala | Gly | Gly | Val | Ala | Thr | Ser | Ala | Leu | Glu | Met | Gln | | |
| | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | | | |
| cag | aac | gct | tcg | cgc | gat | tcc | tgg | agc | ttc | gag | tac | acc | gac | gag | cgc | 1200 | |
| Gln | Asn | Ala | Ser | Arg | Asp | Ser | Trp | Ser | Phe | Glu | Tyr | Thr | Asp | Glu | Arg | | |
| 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 | | |
| ctc | cag | gtg | atc | atg | aag | aac | atc | ttc | aag | acc | tgt | gca | gag | acc | gca | 1248 | |
| Leu | Gln | Val | Ile | Met | Lys | Asn | Ile | Phe | Lys | Thr | Cys | Ala | Glu | Thr | Ala | | |
| | | | 405 | | | | | | 410 | | | | | | 415 | | |
| gca | gag | tat | gga | cac | gag | aac | gat | tac | gtt | gtc | ggc | gct | aac | att | gct | 1296 | |
| Ala | Glu | Tyr | Gly | His | Glu | Asn | Asp | Tyr | Val | Val | Gly | Ala | Asn | Ile | Ala | | |
| | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | | | |
| ggc | ttt | aag | aag | gta | gct | gac | gcg | atg | ctg | gca | cag | ggc | gtc | atc | taa | 1344 | |
| Gly | Phe | Lys | Lys | Val | Ala | Asp | Ala | Met | Leu | Ala | Gln | Gly | Val | Ile | | | |
| | 435 | | | | | | 440 | | | | | 445 | | | | | |

<210> 82

<211> 447

<212> PRT

<213> Brevibacterium lactofermentum

<400> 82

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| Met | Thr | Val | Asp | Glu | Gln | Val | Ser | Asn | Tyr | Tyr | Asp | Met | Leu | Leu | Lys | | |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | | | |
| Arg | Asn | Ala | Gly | Glu | Pro | Glu | Phe | His | Gln | Ala | Val | Ala | Glu | Val | Leu | | |
| | | 20 | | | | | | 25 | | | | | 30 | | | | |
| Glu | Ser | Leu | Lys | Ile | Val | Leu | Glu | Lys | Asp | Pro | His | Tyr | Ala | Asp | Tyr | | |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | | | |
| Gly | Leu | Ile | Gln | Arg | Leu | Cys | Glu | Pro | Glu | Arg | Gln | Leu | Ile | Phe | Arg | | |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | | | |
| Val | Pro | Trp | Val | Asp | Asp | Gln | Gly | Gln | Val | His | Val | Asn | Arg | Gly | Phe | | |
| 65 | | | | 70 | | | | | | 75 | | | | | 80 | | |
| Arg | Val | Gln | Phe | Asn | Ser | Ala | Leu | Gly | Pro | Tyr | Lys | Gly | Gly | Leu | Arg | | |
| | | | 85 | | | | | 90 | | | | | | 95 | | | |
| Phe | His | Pro | Ser | Val | Asn | Leu | Gly | Ile | Val | Lys | Phe | Leu | Gly | Phe | Glu | | |
| | | 100 | | | | | 105 | | | | | | 110 | | | | |
| Gln | Ile | Phe | Lys | Asn | Ser | Leu | Thr | Gly | Leu | Pro | Ile | Gly | Gly | Gly | Lys | | |
| | 115 | | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | | |
| Gly | Gly | Ser | Asp | Phe | Asp | Pro | Lys | Gly | Lys | Ser | Asp | Leu | Glu | Ile | Met | | |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | | | |
| Arg | Phe | Cys | Gln | Ser | Phe | Met | Thr | Glu | Leu | His | Arg | His | Ile | Gly | Glu | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

106/123

| | | | | | | |
|---|-----|-----|-----|-----|--|-----|
| 145 | | 150 | | 155 | | 160 |
| Tyr Arg Asp Val Pro Ala Gly Asp Ile Gly Val Gly Gly Arg Glu Ile | | | | | | |
| | 165 | | 170 | | | 175 |
| Gly Tyr Leu Phe Gly His Tyr Arg Arg Met Ala Asn Gln His Glu Ser | | | | | | |
| | 180 | | 185 | | | 190 |
| Gly Val Leu Thr Gly Lys Gly Leu Thr Trp Gly Gly Ser Leu Val Arg | | | | | | |
| | 195 | | 200 | | | 205 |
| Thr Glu Ala Thr Gly Tyr Gly Cys Val Tyr Phe Val Ser Glu Met Ile | | | | | | |
| | 210 | | 215 | | | 220 |
| Lys Ala Lys Gly Glu Ser Ile Ser Gly Gln Lys Ile Ile Val Ser Gly | | | | | | |
| 225 | | 230 | | 235 | | 240 |
| Ser Gly Asn Val Ala Thr Tyr Ala Ile Glu Lys Ala Gln Glu Leu Gly | | | | | | |
| | 245 | | 250 | | | 255 |
| Ala Thr Val Ile Gly Phe Ser Asp Ser Ser Gly Trp Val His Thr Pro | | | | | | |
| | 260 | | 265 | | | 270 |
| Asn Gly Val Asp Val Ala Lys Leu Arg Glu Ile Lys Glu Val Arg Arg | | | | | | |
| | 275 | | 280 | | | 285 |
| Ala Arg Val Ser Val Tyr Ala Asp Glu Ile Glu Gly Ala Thr Tyr His | | | | | | |
| | 290 | | 295 | | | 300 |
| Thr Asp Gly Ser Ile Trp Asp Leu Lys Cys Asp Ile Ala Leu Pro Cys | | | | | | |
| 305 | | 310 | | 315 | | 320 |
| Ala Thr Gln Asn Glu Leu Asn Gly Glu Asn Ala Lys Thr Leu Ala Asp | | | | | | |
| | 325 | | 330 | | | 335 |
| Asn Gly Cys Arg Phe Val Ala Glu Gly Ala Asn Met Pro Ser Thr Pro | | | | | | |
| | 340 | | 345 | | | 350 |
| Glu Ala Val Glu Val Phe Arg Glu Arg Asp Ile Arg Phe Gly Pro Gly | | | | | | |
| | 355 | | 360 | | | 365 |
| Lys Ala Ala Asn Ala Gly Gly Val Ala Thr Ser Ala Leu Glu Met Gln | | | | | | |
| | 370 | | 375 | | | 380 |
| Gln Asn Ala Ser Arg Asp Ser Trp Ser Phe Glu Tyr Thr Asp Glu Arg | | | | | | |
| 385 | | 390 | | 395 | | 400 |
| Leu Gln Val Ile Met Lys Asn Ile Phe Lys Thr Cys Ala Glu Thr Ala | | | | | | |
| | 405 | | 410 | | | 415 |
| Ala Glu Tyr Gly His Glu Asn Asp Tyr Val Val Gly Ala Asn Ile Ala | | | | | | |
| | 420 | | 425 | | | 430 |
| Gly Phe Lys Lys Val Ala Asp Ala Met Leu Ala Gln Gly Val Ile | | | | | | |
| | 435 | | 440 | | | 445 |

<210> 83

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

THIS PAGE BLANK (USPTO)

107/123

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gltA gene

<220>

<221> misc_feature

<222> (9)

<223> n=inosine

<400> 83

aagatcacnt acatcgaygg

20

<210> 84

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gltA gene

<400> 84

tagaagtcta cgttcgggta

20

<210> 85

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gltA gene

<400> 85

gtcgacaata gcctgaatct g

21

<210> 86

<211> 21

<212> DNA

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gltA gene

<400> 86

cgggtggaacc ggtgctgaca t

21

<210> 87

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gltA gene

<400> 87

gggtgggga attcggtcatg t

21

<210> 88

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gltA gene

<400> 88

tgtcgtagcc gcggtagcgc a

21

<210> 89

<211> 1293

<212> DNA

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1290)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

109/123

<400> 89

| | |
|---|-----|
| gtg gct tct gat aac aac aag gct gta ctg cac tac cct ggc ggc gaa | 48 |
| Val Ala Ser Asp Asn Asn Lys Ala Val Leu His Tyr Pro Gly Gly Glu | |
| 1 5 10 15 | |
| ttc gag atg ggc atc aag cag gcc acc gag ggt aac tcc ggt gtc atc | 96 |
| Phe Glu Met Gly Ile Lys Gln Ala Thr Glu Gly Asn Ser Gly Val Ile | |
| 20 25 30 | |
| ctg ggt aag atg ctg tcg gaa acc ggt ctg gtc acc ttc gac ccc ggt | 144 |
| Leu Gly Lys Met Leu Ser Glu Thr Gly Leu Val Thr Phe Asp Pro Gly | |
| 35 40 45 | |
| tat gtc agc acc ggt tcc acc gaa tcc aag atc acc tac atc gat ggt | 192 |
| Tyr Val Ser Thr Gly Ser Thr Glu Ser Lys Ile Thr Tyr Ile Asp Gly | |
| 50 55 60 | |
| gat gca ggc atc ctg cgc tac cgc ggc tac gac att gcg gat ctg gcc | 240 |
| Asp Ala Gly Ile Leu Arg Tyr Arg Gly Tyr Asp Ile Ala Asp Leu Ala | |
| 65 70 75 80 | |
| gaa aat gcc acc ttc aat gag gtc tcc tac ctc ctg atc aag ggt gag | 288 |
| Glu Asn Ala Thr Phe Asn Glu Val Ser Tyr Leu Leu Ile Lys Gly Glu | |
| 85 90 95 | |
| ctc ccg acc ccg gaa gag ctc cac aag ttc aac gac gag att cgt cac | 336 |
| Leu Pro Thr Pro Glu Glu Leu His Lys Phe Asn Asp Glu Ile Arg His | |
| 100 105 110 | |
| cac acc ctg ctg gac gag gac ttc aag tcc cag ttc aat gtc ttc cct | 384 |
| His Thr Leu Leu Asp Glu Asp Phe Lys Ser Gln Phe Asn Val Phe Pro | |
| 115 120 125 | |
| cgc gat gcc cac ccg atg gcc acc ctg gcc tcc tcg gtt aac atc ctc | 432 |
| Arg Asp Ala His Pro Met Ala Thr Leu Ala Ser Ser Val Asn Ile Leu | |
| 130 135 140 | |
| tcc acc tac tac cag gat cag ctg gat ccc ctg gat gag gct cag ctg | 480 |
| Ser Thr Tyr Tyr Gln Asp Gln Leu Asp Pro Leu Asp Glu Ala Gln Leu | |
| 145 150 155 160 | |
| gac aag gca acc gtc cgc ctg atg gcg aag gtt ccg atg ctg gct gca | 528 |
| Asp Lys Ala Thr Val Arg Leu Met Ala Lys Val Pro Met Leu Ala Ala | |
| 165 170 175 | |
| tac gca cac cgt gcc cgc aag ggt gcg ccg tac atg tac ccg gac aac | 576 |
| Tyr Ala His Arg Ala Arg Lys Gly Ala Pro Tyr Met Tyr Pro Asp Asn | |
| 180 185 190 | |
| tcc ctc aat gcc cgt gag aac ttc ctg cgc atg atg ttc ggt tac ccg | 624 |
| Ser Leu Asn Ala Arg Glu Asn Phe Leu Arg Met Met Phe Gly Tyr Pro | |
| 195 200 205 | |
| acc gag ccg tac gag gtt gat ccg atc atg gtc aaa gcc ctc gac aag | 672 |
| Thr Glu Pro Tyr Glu Val Asp Pro Ile Met Val Lys Ala Leu Asp Lys | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

110/123

| | | | |
|---|-----|-----|------|
| 210 | 215 | 220 | |
| ctg ctc atc ctg cac gca gac cac gag cag aac tgc tcc acc tcc act | | | 720 |
| Leu Leu Ile Leu His Ala Asp His Glu Gln Asn Cys Ser Thr Ser Thr | | | |
| 225 | 230 | 235 | 240 |
| gtc cgc atg atc ggc tcc gcg cag gcg aac atg ttc gtc tcc atc gcc | | | 768 |
| Val Arg Met Ile Gly Ser Ala Gln Ala Asn Met Phe Val Ser Ile Ala | | | |
| | 245 | 250 | 255 |
| ggc ggc atc aac gca ctc tcc ggc ccg ctg cac ggt ggc gcc aac cag | | | 816 |
| Gly Gly Ile Asn Ala Leu Ser Gly Pro Leu His Gly Gly Ala Asn Gln | | | |
| | 260 | 265 | 270 |
| gct gtc ctc gag atg ctc gag gag atc gca gcc aac ggc ggc gac gca | | | 864 |
| Ala Val Leu Glu Met Leu Glu Glu Ile Ala Ala Asn Gly Gly Asp Ala | | | |
| | 275 | 280 | 285 |
| acc gac ttc atg aac cgc gtg aag aac aag gag aag ggt gtc cgc ctc | | | 912 |
| Thr Asp Phe Met Asn Arg Val Lys Asn Lys Glu Lys Gly Val Arg Leu | | | |
| | 290 | 295 | 300 |
| atg ggc ttc gga cac cgc gtc tac aag aac tac gat ccg cgt gca gcc | | | 960 |
| Met Gly Phe Gly His Arg Val Tyr Lys Asn Tyr Asp Pro Arg Ala Ala | | | |
| 305 | 310 | 315 | 320 |
| atc gtc aag gac acc gcc cac gag atc ctc gag cac ctc ggt ggc gac | | | 1008 |
| Ile Val Lys Asp Thr Ala His Glu Ile Leu Glu His Leu Gly Gly Asp | | | |
| | 325 | 330 | 335 |
| cca ctg ctg gat ctg gct ctc aag ctg gaa gaa atc gca ctc aac gac | | | 1056 |
| Pro Leu Leu Asp Leu Ala Leu Lys Leu Glu Glu Ile Ala Leu Asn Asp | | | |
| | 340 | 345 | 350 |
| gat tac ttc atc tcc cgc aag ctg tac ccg aac gtg gac ttc tac acc | | | 1104 |
| Asp Tyr Phe Ile Ser Arg Lys Leu Tyr Pro Asn Val Asp Phe Tyr Thr | | | |
| | 355 | 360 | 365 |
| ggc ctg atc tac cgc gcc atg ggc ttc ccg acg gac ttc ttc acc gtc | | | 1152 |
| Gly Leu Ile Tyr Arg Ala Met Gly Phe Pro Thr Asp Phe Phe Thr Val | | | |
| 370 | 375 | 380 | |
| ctg ttc gcc atc ggc cgc ctc ccg ggc tgg atc gcc cac tac cgc gag | | | 1200 |
| Leu Phe Ala Ile Gly Arg Leu Pro Gly Trp Ile Ala His Tyr Arg Glu | | | |
| 385 | 390 | 395 | 400 |
| cag ctc gcc gat ccg ggc gcc aag atc aac cgt cct cgc cag atc tac | | | 1248 |
| Gln Leu Ala Asp Pro Gly Ala Lys Ile Asn Arg Pro Arg Gln Ile Tyr | | | |
| | 405 | 410 | 415 |
| acc ggt gag acc gca cgc aag atc atc ccc cgc gaa gag cgc tag | | | 1293 |
| Thr Gly Glu Thr Ala Arg Lys Ile Ile Pro Arg Glu Glu Arg | | | |
| | 420 | 425 | 430 |

<210> 90

<211> 430

THIS PAGE BLANK (USPTO)

111/123

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 90

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Ala | Ser | Asp | Asn | Asn | Lys | Ala | Val | Leu | His | Tyr | Pro | Gly | Gly | Glu | 1 | 5 | 10 | 15 |
| Phe | Glu | Met | Gly | Ile | Lys | Gln | Ala | Thr | Glu | Gly | Asn | Ser | Gly | Val | Ile | 20 | 25 | 30 | |
| Leu | Gly | Lys | Met | Leu | Ser | Glu | Thr | Gly | Leu | Val | Thr | Phe | Asp | Pro | Gly | 35 | 40 | 45 | |
| Tyr | Val | Ser | Thr | Gly | Ser | Thr | Glu | Ser | Lys | Ile | Thr | Tyr | Ile | Asp | Gly | 50 | 55 | 60 | |
| Asp | Ala | Gly | Ile | Leu | Arg | Tyr | Arg | Gly | Tyr | Asp | Ile | Ala | Asp | Leu | Ala | 65 | 70 | 75 | 80 |
| Glu | Asn | Ala | Thr | Phe | Asn | Glu | Val | Ser | Tyr | Leu | Leu | Ile | Lys | Gly | Glu | 85 | 90 | 95 | |
| Leu | Pro | Thr | Pro | Glu | Glu | Leu | His | Lys | Phe | Asn | Asp | Glu | Ile | Arg | His | 100 | 105 | 110 | |
| His | Thr | Leu | Leu | Asp | Glu | Asp | Phe | Lys | Ser | Gln | Phe | Asn | Val | Phe | Pro | 115 | 120 | 125 | |
| Arg | Asp | Ala | His | Pro | Met | Ala | Thr | Leu | Ala | Ser | Ser | Val | Asn | Ile | Leu | 130 | 135 | 140 | |
| Ser | Thr | Tyr | Tyr | Gln | Asp | Gln | Leu | Asp | Pro | Leu | Asp | Glu | Ala | Gln | Leu | 145 | 150 | 155 | 160 |
| Asp | Lys | Ala | Thr | Val | Arg | Leu | Met | Ala | Lys | Val | Pro | Met | Leu | Ala | Ala | 165 | 170 | 175 | |
| Tyr | Ala | His | Arg | Ala | Arg | Lys | Gly | Ala | Pro | Tyr | Met | Tyr | Pro | Asp | Asn | 180 | 185 | 190 | |
| Ser | Leu | Asn | Ala | Arg | Glu | Asn | Phe | Leu | Arg | Met | Met | Phe | Gly | Tyr | Pro | 195 | 200 | 205 | |
| Thr | Glu | Pro | Tyr | Glu | Val | Asp | Pro | Ile | Met | Val | Lys | Ala | Leu | Asp | Lys | 210 | 215 | 220 | |
| Leu | Leu | Ile | Leu | His | Ala | Asp | His | Glu | Gln | Asn | Cys | Ser | Thr | Ser | Thr | 225 | 230 | 235 | 240 |
| Val | Arg | Met | Ile | Gly | Ser | Ala | Gln | Ala | Asn | Met | Phe | Val | Ser | Ile | Ala | 245 | 250 | 255 | |
| Gly | Gly | Ile | Asn | Ala | Leu | Ser | Gly | Pro | Leu | His | Gly | Gly | Ala | Asn | Gln | 260 | 265 | 270 | |
| Ala | Val | Leu | Glu | Met | Leu | Glu | Glu | Ile | Ala | Ala | Asn | Gly | Gly | Asp | Ala | 275 | 280 | 285 | |
| Thr | Asp | Phe | Met | Asn | Arg | Val | Lys | Asn | Lys | Glu | Lys | Gly | Val | Arg | Leu | 290 | 295 | 300 | |
| Met | Gly | Phe | Gly | His | Arg | Val | Tyr | Lys | Asn | Tyr | Asp | Pro | Arg | Ala | Ala | | | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

112/123

| | | | | | | |
|---------------------|-----------------|-----------------|-------------|-----|-----|-----|
| 305 | | 310 | | 315 | | 320 |
| Ile Val Lys Asp Thr | Ala His Glu Ile | Leu Glu His Leu | Gly Gly Asp | | | |
| | 325 | | 330 | | 335 | |
| Pro Leu Leu Asp Leu | Ala Leu Lys Leu | Glu Glu Ile Ala | Leu Asn Asp | | | |
| | 340 | | 345 | | 350 | |
| Asp Tyr Phe Ile Ser | Arg Lys Leu Tyr | Pro Asn Val Asp | Phe Tyr Thr | | | |
| | 355 | | 360 | | 365 | |
| Gly Leu Ile Tyr Arg | Ala Met Gly Phe | Pro Thr Asp Phe | Phe Thr Val | | | |
| | 370 | | 375 | | 380 | |
| Leu Phe Ala Ile Gly | Arg Leu Pro Gly | Trp Ile Ala His | Tyr Arg Glu | | | |
| 385 | | 390 | | 395 | | 400 |
| Gln Leu Ala Asp Pro | Gly Ala Lys Ile | Asn Arg Pro Arg | Gln Ile Tyr | | | |
| | 405 | | 410 | | 415 | |
| Thr Gly Glu Thr Ala | Arg Lys Ile Ile | Pro Arg Glu Glu | Arg | | | |
| | 420 | | 425 | | 430 | |

<210> 91

<211> 1314

<212> DNA

<213> Brevibacterium lactofermentum

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1311)

<400> 91

| | |
|---|-----|
| atg ttt gaa agg gat atc gtg gct act gat aac aac aag gct gtc ctg | 48 |
| Met Phe Glu Arg Asp Ile Val Ala Thr Asp Asn Asn Lys Ala Val Leu | |
| 1 5 10 15 | |
| cac tac ccc ggt ggc gag ttc gaa atg gac atc atc gag gct tct gag | 96 |
| His Tyr Pro Gly Gly Glu Phe Glu Met Asp Ile Ile Glu Ala Ser Glu | |
| 20 25 30 | |
| ggt aac aac ggt gtt gtc ctg ggc aag atg ctg tct gag act gga ctg | 144 |
| Gly Asn Asn Gly Val Val Leu Gly Lys Met Leu Ser Glu Thr Gly Leu | |
| 35 40 45 | |
| atc act ttt gac cca ggt tat gtg agc act ggc tcc acc gag tcg aag | 192 |
| Ile Thr Phe Asp Pro Gly Tyr Val Ser Thr Gly Ser Thr Glu Ser Lys | |
| 50 55 60 | |
| atc acc tac atc gat ggc gat gcg gga atc ctg cgt tac cgc ggc tat | 240 |
| Ile Thr Tyr Ile Asp Gly Asp Ala Gly Ile Leu Arg Tyr Arg Gly Tyr | |
| 65 70 75 80 | |
| gac atc gct gat ctg gct gag aat gcc acc ttc aac gag gtt tct tac | 288 |
| Asp Ile Ala Asp Leu Ala Glu Asn Ala Thr Phe Asn Glu Val Ser Tyr | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

113/123

| | | | | | 85 | | | | | | 90 | | | | | | 95 | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| cta | ctt | atc | aac | ggt | gaa | cta | cca | acc | cca | gat | gag | ctt | cac | aag | ttt | 336 | | |
| Leu | Leu | Ile | Asn | Gly | Glu | Leu | Pro | Thr | Pro | Asp | Glu | Leu | His | Lys | Phe | | | |
| | | | | | 100 | | | | | | 105 | | | | | | 110 | |
| aac | gac | gag | att | cgc | cac | cac | acc | ctt | ctg | gac | gag | gac | ttc | aag | tcc | 384 | | |
| Asn | Asp | Glu | Ile | Arg | His | His | Thr | Leu | Leu | Asp | Glu | Asp | Phe | Lys | Ser | | | |
| | | | | | 115 | | | | | | 120 | | | | | | 125 | |
| cag | ttc | aac | gtg | ttc | cca | cgc | gac | gct | cac | cca | atg | gca | acc | ttg | gct | 432 | | |
| Gln | Phe | Asn | Val | Phe | Pro | Arg | Asp | Ala | His | Pro | Met | Ala | Thr | Leu | Ala | | | |
| | | | | | 130 | | | | | | 135 | | | | | | 140 | |
| tcc | tcg | gtt | aac | att | ttg | tct | acc | tac | tac | cag | gat | cag | ctg | aac | cca | 480 | | |
| Ser | Ser | Val | Asn | Ile | Leu | Ser | Thr | Tyr | Tyr | Gln | Asp | Gln | Leu | Asn | Pro | | | |
| | | | | | 145 | | | | | | 150 | | | | | | 155 | 160 |
| ctc | gat | gag | gca | cag | ctt | gat | aag | gca | acc | gtt | cgc | ctc | atg | gca | aag | 528 | | |
| Leu | Asp | Glu | Ala | Gln | Leu | Asp | Lys | Ala | Thr | Val | Arg | Leu | Met | Ala | Lys | | | |
| | | | | | 165 | | | | | | 170 | | | | | | 175 | |
| gtt | cca | atg | ctg | gct | gcg | tac | gca | cac | cgc | gca | cgc | aag | ggt | gct | cct | 576 | | |
| Val | Pro | Met | Leu | Ala | Ala | Tyr | Ala | His | Arg | Ala | Arg | Lys | Gly | Ala | Pro | | | |
| | | | | | 180 | | | | | | 185 | | | | | | 190 | |
| tac | atg | tac | cca | gac | aac | tcc | ctc | aac | gcg | cgt | gag | aac | ttc | ctg | cgc | 624 | | |
| Tyr | Met | Tyr | Pro | Asp | Asn | Ser | Leu | Asn | Ala | Arg | Glu | Asn | Phe | Leu | Arg | | | |
| | | | | | 195 | | | | | | 200 | | | | | | 205 | |
| atg | atg | ttc | ggt | tac | cca | acc | gag | cca | tac | gag | atc | gac | cca | atc | atg | 672 | | |
| Met | Met | Phe | Gly | Tyr | Pro | Thr | Glu | Pro | Tyr | Glu | Ile | Asp | Pro | Ile | Met | | | |
| | | | | | 210 | | | | | | 215 | | | | | | 220 | |
| gtc | aag | gct | ctg | gac | aag | ctg | ctc | atc | ctg | cac | gct | gac | cac | gag | cag | 720 | | |
| Val | Lys | Ala | Leu | Asp | Lys | Leu | Leu | Ile | Leu | His | Ala | Asp | His | Glu | Gln | | | |
| | | | | | 225 | | | | | | 230 | | | | | | 235 | 240 |
| aac | tgc | tcc | acc | tcc | acc | gtt | cgt | atg | atc | ggt | tcc | gca | cag | gcc | aac | 768 | | |
| Asn | Cys | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Arg | Met | Ile | Gly | Ser | Ala | Gln | Ala | Asn | | | |
| | | | | | 245 | | | | | | 250 | | | | | | 255 | |
| atg | ttt | gtc | tcc | atc | gct | ggt | ggc | atc | aac | gct | ctg | tcc | ggc | cca | ctg | 816 | | |
| Met | Phe | Val | Ser | Ile | Ala | Gly | Gly | Ile | Asn | Ala | Leu | Ser | Gly | Pro | Leu | | | |
| | | | | | 260 | | | | | | 265 | | | | | | 270 | |
| cac | ggt | ggc | gca | aac | cag | gct | gtt | ctg | gag | atg | ctc | gaa | gac | atc | aag | 864 | | |
| His | Gly | Gly | Ala | Asn | Gln | Ala | Val | Leu | Glu | Met | Leu | Glu | Asp | Ile | Lys | | | |
| | | | | | 275 | | | | | | 280 | | | | | | 285 | |
| aac | aac | cac | ggt | ggc | gac | gca | acc | gcg | ttc | atg | aac | aag | gtc | aag | aac | 912 | | |
| Asn | Asn | His | Gly | Gly | Asp | Ala | Thr | Ala | Phe | Met | Asn | Lys | Val | Lys | Asn | | | |
| | | | | | 290 | | | | | | 295 | | | | | | 300 | |
| aag | gaa | gac | ggc | gtc | cgc | ctc | atg | ggc | ttc | gga | cac | cgc | gtt | tac | aag | 960 | | |
| Lys | Glu | Asp | Gly | Val | Arg | Leu | Met | Gly | Phe | Gly | His | Arg | Val | Tyr | Lys | | | |
| | | | | | 305 | | | | | | 310 | | | | | | 315 | 320 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

114/123

```

aac tac gat cca cgt gca gca atc gtc aag gag acc gca cac gag atc 1008
Asn Tyr Asp Pro Arg Ala Ala Ile Val Lys Glu Thr Ala His Glu Ile
      325                      330                      335

ctc gag cac ctc ggt ggc gac gat ctt ctg gat ctg gca atc aag ctg 1056
Leu Glu His Leu Gly Gly Asp Asp Leu Leu Asp Leu Ala Ile Lys Leu
      340                      345                      350

gaa gaa att gca ctg gct gat gat tac ttc atc tcc cgc aag ctc tac 1104
Glu Glu Ile Ala Leu Ala Asp Asp Tyr Phe Ile Ser Arg Lys Leu Tyr
      355                      360                      365

ccg aac gta gac ttc tac acc ggc ctg atc tac cgc gca atg ggc ttc 1152
Pro Asn Val Asp Phe Tyr Thr Gly Leu Ile Tyr Arg Ala Met Gly Phe
      370                      375                      380

cca act gac ttc ttc acc gta ttg ttc gca atc ggt cgt ctg cca gga 1200
Pro Thr Asp Phe Phe Thr Val Leu Phe Ala Ile Gly Arg Leu Pro Gly
385                      390                      395                      400

tgg atc gct cac tac cgc gag cag ctc ggt gca gca ggc aac aag atc 1248
Trp Ile Ala His Tyr Arg Glu Gln Leu Gly Ala Ala Gly Asn Lys Ile
      405                      410                      415

aac cgc cca cgc cag gtc tac acc ggc aag gaa tcc cgc aag ttg gtt 1296
Asn Arg Pro Arg Gln Val Tyr Thr Gly Lys Glu Ser Arg Lys Leu Val
      420                      425                      430

cct cgc gag gag cgc taa 1314
Pro Arg Glu Glu Arg
      435

```

<210> 92

<211> 437

<212> PRT

<213> Brevibacterium lactofermentum

<400> 92

```

Met Phe Glu Arg Asp Ile Val Ala Thr Asp Asn Asn Lys Ala Val Leu
  1           5           10           15
His Tyr Pro Gly Gly Glu Phe Glu Met Asp Ile Ile Glu Ala Ser Glu
      20           25           30
Gly Asn Asn Gly Val Val Leu Gly Lys Met Leu Ser Glu Thr Gly Leu
      35           40           45
Ile Thr Phe Asp Pro Gly Tyr Val Ser Thr Gly Ser Thr Glu Ser Lys
      50           55           60
Ile Thr Tyr Ile Asp Gly Asp Ala Gly Ile Leu Arg Tyr Arg Gly Tyr
      65           70           75           80
Asp Ile Ala Asp Leu Ala Glu Asn Ala Thr Phe Asn Glu Val Ser Tyr
      85           90           95

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

115/123

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Leu | Ile | Asn | Gly | Glu | Leu | Pro | Thr | Pro | Asp | Glu | Leu | His | Lys | Phe | 100 | 105 | 110 |
| Asn | Asp | Glu | Ile | Arg | His | His | Thr | Leu | Leu | Asp | Glu | Asp | Phe | Lys | Ser | 115 | 120 | 125 |
| Gln | Phe | Asn | Val | Phe | Pro | Arg | Asp | Ala | His | Pro | Met | Ala | Thr | Leu | Ala | 130 | 135 | 140 |
| Ser | Ser | Val | Asn | Ile | Leu | Ser | Thr | Tyr | Tyr | Gln | Asp | Gln | Leu | Asn | Pro | 145 | 150 | 155 |
| Leu | Asp | Glu | Ala | Gln | Leu | Asp | Lys | Ala | Thr | Val | Arg | Leu | Met | Ala | Lys | 165 | 170 | 175 |
| Val | Pro | Met | Leu | Ala | Ala | Tyr | Ala | His | Arg | Ala | Arg | Lys | Gly | Ala | Pro | 180 | 185 | 190 |
| Tyr | Met | Tyr | Pro | Asp | Asn | Ser | Leu | Asn | Ala | Arg | Glu | Asn | Phe | Leu | Arg | 195 | 200 | 205 |
| Met | Met | Phe | Gly | Tyr | Pro | Thr | Glu | Pro | Tyr | Glu | Ile | Asp | Pro | Ile | Met | 210 | 215 | 220 |
| Val | Lys | Ala | Leu | Asp | Lys | Leu | Leu | Ile | Leu | His | Ala | Asp | His | Glu | Gln | 225 | 230 | 235 |
| Asn | Cys | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Arg | Met | Ile | Gly | Ser | Ala | Gln | Ala | Asn | 245 | 250 | 255 |
| Met | Phe | Val | Ser | Ile | Ala | Gly | Gly | Ile | Asn | Ala | Leu | Ser | Gly | Pro | Leu | 260 | 265 | 270 |
| His | Gly | Gly | Ala | Asn | Gln | Ala | Val | Leu | Glu | Met | Leu | Glu | Asp | Ile | Lys | 275 | 280 | 285 |
| Asn | Asn | His | Gly | Gly | Asp | Ala | Thr | Ala | Phe | Met | Asn | Lys | Val | Lys | Asn | 290 | 295 | 300 |
| Lys | Glu | Asp | Gly | Val | Arg | Leu | Met | Gly | Phe | Gly | His | Arg | Val | Tyr | Lys | 305 | 310 | 315 |
| Asn | Tyr | Asp | Pro | Arg | Ala | Ala | Ile | Val | Lys | Glu | Thr | Ala | His | Glu | Ile | 325 | 330 | 335 |
| Leu | Glu | His | Leu | Gly | Gly | Asp | Asp | Leu | Leu | Asp | Leu | Ala | Ile | Lys | Leu | 340 | 345 | 350 |
| Glu | Glu | Ile | Ala | Leu | Ala | Asp | Asp | Tyr | Phe | Ile | Ser | Arg | Lys | Leu | Tyr | 355 | 360 | 365 |
| Pro | Asn | Val | Asp | Phe | Tyr | Thr | Gly | Leu | Ile | Tyr | Arg | Ala | Met | Gly | Phe | 370 | 375 | 380 |
| Pro | Thr | Asp | Phe | Phe | Thr | Val | Leu | Phe | Ala | Ile | Gly | Arg | Leu | Pro | Gly | 385 | 390 | 395 |
| Trp | Ile | Ala | His | Tyr | Arg | Glu | Gln | Leu | Gly | Ala | Ala | Gly | Asn | Lys | Ile | 405 | 410 | 415 |
| Asn | Arg | Pro | Arg | Gln | Val | Tyr | Thr | Gly | Lys | Glu | Ser | Arg | Lys | Leu | Val | 420 | 425 | 430 |
| Pro | Arg | Glu | Glu | Arg | | | | | | | | | | | | | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

435

<210> 93

<211> 1656

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (309)..(1595)

<400> 93

```

acgcccgatt cttcaacact atcgaagagg tcccaaccca cgcgttgacc cagggttgg 60
gtactttgtc ccgcgcgcaa aatatcgtgt tgggtggcaac tggccaagga aaagcagaca 120
gccatccgcg gaactgtgga aggtccagtg actgtcttct gcccaggttc cattctgcaa 180
atgcacaaca acgccaccat catcgttgat gaagcagcag catccaagct gaaaaatgct 240
gaccattacc gtctcatgga gcaattaaag ctgcgctaga aacaaaaagg aaagtactgt 300
gtggggct atg cac aca gaa ctt tcc agt ttg cgc cct gcg tac cat gtg 350
      Met His Thr Glu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ala Tyr His Val
          1             5             10
act cct ccg cag ggc aga ctc aat gat ccc aat gga atg tac gtc gat 398
Thr Pro Pro Gln Gly Arg Leu Asn Asp Pro Asn Gly Met Tyr Val Asp
      15             20             25             30
gga gat acc ctc cac gtc tac tac cag cac gat cca ggt ttc ccc ttc 446
Gly Asp Thr Leu His Val Tyr Tyr Gln His Asp Pro Gly Phe Pro Phe
          35             40             45
gca cca aag cgc acc ggt tgg gct cac acc acc acg ccg ttg acc gga 494
Ala Pro Lys Arg Thr Gly Trp Ala His Thr Thr Thr Pro Leu Thr Gly
          50             55             60
ccg cag cga ttg cag tgg acg cac ctg ccc gat gct ctt tac ccg gat 542
Pro Gln Arg Leu Gln Trp Thr His Leu Pro Asp Ala Leu Tyr Pro Asp
          65             70             75
gta tcc tat gac ctg gat gga tgc tat tcc ggc gga gcc gta ttt tct 590
Val Ser Tyr Asp Leu Asp Gly Cys Tyr Ser Gly Gly Ala Val Phe Ser
          80             85             90
gac ggc acg ctt aaa ctt ttc tac acc ggc aac cga aaa att gac ggc 638
Asp Gly Thr Leu Lys Leu Phe Tyr Thr Gly Asn Arg Lys Ile Asp Gly
          95             100             105             110
aag cgc cgc gcc acc caa aac ctc gtc gaa gtc gag gac cca act ggg 686
Lys Arg Arg Ala Thr Gln Asn Leu Val Glu Val Glu Asp Pro Thr Gly
          115             120             125
ctg atg ggc ggc att cat cgc cgc tcg cct aaa aat ccg ctt atc gac 734
Leu Met Gly Gly Ile His Arg Arg Ser Pro Lys Asn Pro Leu Ile Asp

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

117/123

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|-----|--|--|-----|
| | | | | | | | | | | | | | | 130 | | | | | | | | | | | | | | | 135 | | | | | | | | | | | | | | | 140 | | | |
| gga | ccc | gcc | agc | ggt | ttt | acg | ccc | cac | tac | cgc | gat | ccc | atg | atc | agc | 782 | Gly | Pro | Ala | Ser | Gly | Phe | Thr | Pro | His | Tyr | Arg | Asp | Pro | Met | Ile | Ser | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 145 | | | | | | | | | | | | | | | 150 | | | | | | | | | | | | | | | 155 | | | |
| cct | gat | ggg | gat | ggt | tgg | aag | atg | gtt | ctt | ggg | gct | cag | cgc | gaa | aac | 830 | Pro | Asp | Gly | Asp | Gly | Trp | Lys | Met | Val | Leu | Gly | Ala | Gln | Arg | Glu | Asn | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 160 | | | | | | | | | | | | | | | 165 | | | | | | | | | | | | | | | 170 | | | |
| ctc | acc | ggt | gca | gcg | gtt | cta | tac | cgc | tcg | gca | gat | ctt | gaa | aac | tgg | 878 | Leu | Thr | Gly | Ala | Ala | Val | Leu | Tyr | Arg | Ser | Ala | Asp | Leu | Glu | Asn | Trp | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 175 | | | | | | | | | | | | | | | 180 | | | | | | | | | | | | | | | 185 | | | 190 |
| gaa | ttc | tcc | ggt | gaa | atc | acc | ttt | gac | ctc | agc | gac | gca | caa | cct | ggt | 926 | Glu | Phe | Ser | Gly | Glu | Ile | Thr | Phe | Asp | Leu | Ser | Asp | Ala | Gln | Pro | Gly | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 195 | | | | | | | | | | | | | | | 200 | | | | | | | | | | | | | | | 205 | | | |
| tct | gcc | cct | gat | ctc | gtt | cct | ggc | ggc | tac | atg | tgg | gaa | tgc | ccc | aac | 974 | Ser | Ala | Pro | Asp | Leu | Val | Pro | Gly | Gly | Tyr | Met | Trp | Glu | Cys | Pro | Asn | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 210 | | | | | | | | | | | | | | | 215 | | | | | | | | | | | | | | | 220 | | | |
| ctt | ttt | acg | ctt | cgc | gat | gaa | aaa | acc | ggc | gaa | gac | ctc | gat | gtg | ctg | 1022 | Leu | Phe | Thr | Leu | Arg | Asp | Glu | Lys | Thr | Gly | Glu | Asp | Leu | Asp | Val | Leu | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 225 | | | | | | | | | | | | | | | 230 | | | | | | | | | | | | | | | 235 | | | |
| att | ttc | tgt | cca | caa | gga | ttg | gac | cgt | atc | gat | gat | gag | gtt | act | cac | 1070 | Ile | Phe | Cys | Pro | Gln | Gly | Leu | Asp | Arg | Ile | Asp | Asp | Glu | Val | Thr | His | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 240 | | | | | | | | | | | | | | | 245 | | | | | | | | | | | | | | | 250 | | | |
| tac | gca | agc | tct | gac | cag | tgc | gga | tat | gtc | gtc | ggc | aag | ctt | gaa | gaa | 1118 | Tyr | Ala | Ser | Ser | Asp | Gln | Cys | Gly | Tyr | Val | Val | Gly | Lys | Leu | Glu | Glu | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 255 | | | | | | | | | | | | | | | 260 | | | | | | | | | | | | | | | 265 | | | 270 |
| acg | acc | ttc | cgt | gtc | ctg | cga | gga | ttc | agc | gag | ctg | gat | ttc | ggt | cat | 1166 | Thr | Thr | Phe | Arg | Val | Leu | Arg | Gly | Phe | Ser | Glu | Leu | Asp | Phe | Gly | His | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 275 | | | | | | | | | | | | | | | 280 | | | | | | | | | | | | | | | 285 | | | |
| gaa | ttc | tac | gcg | ccg | cag | gtt | gca | gtc | aac | ggt | tcc | gat | gcc | tgg | ctt | 1214 | Glu | Phe | Tyr | Ala | Pro | Gln | Val | Ala | Val | Asn | Gly | Ser | Asp | Ala | Trp | Leu | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 290 | | | | | | | | | | | | | | | 295 | | | | | | | | | | | | | | | 300 | | | |
| gtg | ggc | tgg | atg | gga | ttg | cct | gca | cag | gat | gat | cac | cca | aca | gtt | gcg | 1262 | Val | Gly | Trp | Met | Gly | Leu | Pro | Ala | Gln | Asp | Asp | His | Pro | Thr | Val | Ala | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 305 | | | | | | | | | | | | | | | 310 | | | | | | | | | | | | | | | 315 | | | |
| cag | gaa | gga | tgg | gtg | cac | tgc | ctg | acc | gtt | cct | cgc | agg | ctt | cat | ttg | 1310 | Gln | Glu | Gly | Trp | Val | His | Cys | Leu | Thr | Val | Pro | Arg | Arg | Leu | His | Leu | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 320 | | | | | | | | | | | | | | | 325 | | | | | | | | | | | | | | | 330 | | | |
| cgt | aac | cat | gcg | atc | tat | caa | gag | ctt | ctt | ctc | cca | gaa | ggg | gag | tcg | 1358 | Arg | Asn | His | Ala | Ile | Tyr | Gln | Glu | Leu | Leu | Leu | Pro | Glu | Gly | Glu | Ser | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 335 | | | | | | | | | | | | | | | 340 | | | | | | | | | | | | | | | 345 | | | 350 |
| ggg | gta | act | aga | tct | gta | tta | ggt | tct | gaa | cct | gtc | cga | gta | gac | atc | 1406 | Gly | Val | Thr | Arg | Ser | Val | Leu | Gly | S | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

118/123

```

cga gac aat gtt tcc ctc gag tgg gat ggt gtc cgg ttg tct gtg gat 1454
Arg Asp Asn Val Ser Leu Glu Trp Asp Gly Val Arg Leu Ser Val Asp
      370      375      380
cgc gat ggc gat cgt cgt gta gct gaa gta aaa cct ggc gaa tta gtg 1502
Arg Asp Gly Asp Arg Arg Val Ala Glu Val Lys Pro Gly Glu Leu Val
      385      390      395
atc gcg gac gat aat aca gcg att gag ata aca gca ggt cat ggc cag 1550
Ile Ala Asp Asp Asn Thr Ala Ile Glu Ile Thr Ala Gly His Gly Gln
      400      405      410
gtt tcc ttc gct ttc cgc acc ttc aaa ggt gac act att gag aga 1595
Val Ser Phe Ala Phe Arg Thr Phe Lys Gly Asp Thr Ile Glu Arg
415      420      425
taagtcataa aaaagggcct tctgtggcgg attgtacaaa tacttcgcaa aatcccttga 1655
t 1656

```

<210> 94

<211> 429

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 94

```

Met His Thr Glu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ala Tyr His Val Thr Pro
 1      5      10      15
Pro Gln Gly Arg Leu Asn Asp Pro Asn Gly Met Tyr Val Asp Gly Asp
      20      25      30
Thr Leu His Val Tyr Tyr Gln His Asp Pro Gly Phe Pro Phe Ala Pro
      35      40      45
Lys Arg Thr Gly Trp Ala His Thr Thr Thr Pro Leu Thr Gly Pro Gln
      50      55      60
Arg Leu Gln Trp Thr His Leu Pro Asp Ala Leu Tyr Pro Asp Val Ser
65      70      75      80
Tyr Asp Leu Asp Gly Cys Tyr Ser Gly Gly Ala Val Phe Ser Asp Gly
      85      90      95
Thr Leu Lys Leu Phe Tyr Thr Gly Asn Arg Lys Ile Asp Gly Lys Arg
      100      105      110
Arg Ala Thr Gln Asn Leu Val Glu Val Glu Asp Pro Thr Gly Leu Met
      115      120      125
Gly Gly Ile His Arg Arg Ser Pro Lys Asn Pro Leu Ile Asp Gly Pro
      130      135      140
Ala Ser Gly Phe Thr Pro His Tyr Arg Asp Pro Met Ile Ser Pro Asp
145      150      155      160
Gly Asp Gly Trp Lys Met Val Leu Gly Ala Gln Arg Glu Asn Leu Thr
      165      170      175

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

119/123

Gly Ala Ala Val Leu Tyr Arg Ser Ala Asp Leu Glu Asn Trp Glu Phe
 180 185 190
 Ser Gly Glu Ile Thr Phe Asp Leu Ser Asp Ala Gln Pro Gly Ser Ala
 195 200 205
 Pro Asp Leu Val Pro Gly Gly Tyr Met Trp Glu Cys Pro Asn Leu Phe
 210 215 220
 Thr Leu Arg Asp Glu Lys Thr Gly Glu Asp Leu Asp Val Leu Ile Phe
 225 230 235 240
 Cys Pro Gln Gly Leu Asp Arg Ile Asp Asp Glu Val Thr His Tyr Ala
 245 250 255
 Ser Ser Asp Gln Cys Gly Tyr Val Val Gly Lys Leu Glu Glu Thr Thr
 260 265 270
 Phe Arg Val Leu Arg Gly Phe Ser Glu Leu Asp Phe Gly His Glu Phe
 275 280 285
 Tyr Ala Pro Gln Val Ala Val Asn Gly Ser Asp Ala Trp Leu Val Gly
 290 295 300
 Trp Met Gly Leu Pro Ala Gln Asp Asp His Pro Thr Val Ala Gln Glu
 305 310 315 320
 Gly Trp Val His Cys Leu Thr Val Pro Arg Arg Leu His Leu Arg Asn
 325 330 335
 His Ala Ile Tyr Gln Glu Leu Leu Leu Pro Glu Gly Glu Ser Gly Val
 340 345 350
 Thr Arg Ser Val Leu Gly Ser Glu Pro Val Arg Val Asp Ile Arg Asp
 355 360 365
 Asn Val Ser Leu Glu Trp Asp Gly Val Arg Leu Ser Val Asp Arg Asp
 370 375 380
 Gly Asp Arg Arg Val Ala Glu Val Lys Pro Gly Glu Leu Val Ile Ala
 385 390 395 400
 Asp Asp Asn Thr Ala Ile Glu Ile Thr Ala Gly His Gly Gln Val Ser
 405 410 415
 Phe Ala Phe Arg Thr Phe Lys Gly Asp Thr Ile Glu Arg
 420 425

<210> 95

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
 amplifying scrB gene

THIS PAGE BLANK (USPTO)

120/123

<400> 95
gtacatatg tcgtagaac gcgtaatacg actca 35

<210> 96
<211> 35
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying scrB gene

<400> 96
cgtagaacg cgtaatacga ctactatag ggaga 35

<210> 97
<211> 30
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:primer for
LA cloning of scrB

<400> 97
gtaaagagcg tcgggcaggc gcgtccactg 30

<210> 98
<211> 30
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:primer for
LA cloning of scrB

<400> 98
gggtgagcc cagccggtgc gctttggtgc 30

<210> 99

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
LA cloning of scrB

<400> 99

atcagccctg atggtgatgg ttggaaaatg

30

<210> 100

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
LA cloning of scrB gene

<400> 100

ggtgcagcgg ttctataccg ctcgacagat

30

<210> 101

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying scrB gene

<400> 101

ggcccgggac gcccgattct tcaacactat cg

32

<210> 102

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying scrB gene

<400> 102

ggcccgggga tcaagggatt ttgcgaagta tt

32

<210> 103

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying icd gene

<400> 103

gaagatctct atgaccagcg catcaagctg

30

<210> 104

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying icd gene

<400> 104

gaagatctgg tcatcccaga acctgatcac

30

<210> 105

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gdh gene

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<400> 105

gcgcctgcag gtccgagggt gtgcgttcgg ca

32

<210> 106

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gdh gene

<400> 106

gcgcctgcag gcaccaggat gccctcaacc ag

32

<210> 107

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gltA gene

<400> 107

ggggtaccga tcactataac cccacagcac

30

<210> 108

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gltA gene

<400> 108

ggggtaccct ggctgatctg aactaggcgc

30

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06913

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12N15/60, C12N15/54, C12N15/53, C12N15/31, C12N15/56, C12N9/88, C12N9/12, C12N9/04, C07K14/34, C12N9/26, C12P13/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N15/60, C12N15/54, C12N15/53, C12N15/31, C12N15/56, C12N9/88, C12N9/12, C12N9/04, C07K14/34, C12N9/26, C12P13/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JICST FILE (JOIS), WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG), MEDLINE (STN), EMBL/DDBJ/Genbank/PIR/Swissprot/Geneseq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| Y | JP, 7-63383, B2, (Ajinomoto Co., Inc.), 12 July, 1995 (12.07.95), & FR, 2612937, A & US, 5250434, A & AU, 8811614, A & BR, 8801289, A & KR, 9606580, A | 1-49 |
| Y | JP, 4-4887, A (Ajinomoto Co., Inc.), 09 January, 1992 (09.01.92), & FR, 2661191, A & US, 5250423, A | 1-49 |
| Y | Microbiology, Vol.144 [5] (1998), K. Takai et al., "ppc, the gene for phosphoenolpyruvate carboxylase from an extremely thermophilic bacterium, <i>Rhodothermus obamensis</i> : Cloning, sequencing and overexpression in <i>Escherichia coli</i> ", pp.1423-1434 | 1-49 |
| Y | JP, 5-56782, A (Ajinomoto Co., Inc.), 09 March, 1993 (09.03.93), & EP, 530765, A2 & US, 57700661, A & CA, 2077308, A & US, 5439822, A & TW, 260709, A & DE, 69217144, B | 1, 17, 18, 49 |

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not
considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing
date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is
cited to establish the publication date of another citation or other
special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other
means

"P" document published prior to the international filing date but later
than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or
priority date and not in conflict with the application but cited to
understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be
considered novel or cannot be considered to involve an inventive
step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be
considered to involve an inventive step when the document is
combined with one or more other such documents, such
combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
19 December, 2000 (19.12.00)

Date of mailing of the international search report
26 December, 2000 (26.12.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06913

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| Y | WO, 92/18635, A1 (Commonwealth Sci. & Ind. Res. Org.), 29 October, 1992 (29.10.92), & ZA, 9202761, A & AU, 9215771, A & NZ, 242370, A Fig. 5; Table 4 | 1,17,18,49 |
| Y | Gene, Vol.145[1](1994) D.Wereecke et al. "Cloning and sequence analysis of the gene encoding isocitrate lyase from <i>Rhodococcus fascians</i> " pp.109-114 | 1,17,18,19 |
| Y | Arch. Microbiol, Vol.166[2](1996) W. Jager et al. "A <i>Corynebacterium glutamicum</i> gene encoding a two-domain protein similar to biotin carboxylases and biotin-carboxyl-carrier proteins" pp.977-984 | 2,19,20,49 |
| Y | Mol. Microbiol, Vol.19(1996) S. Donadio et al. "Erythromycin production in <i>Saccharopolyspora erythraea</i> does not require a functional propionyl-CoA carbocylase" pp.977-984 | 2,19,20,49 |
| Y | WO, 94/08016, A1 (Arch Dev. Corp.), 14 April, 1994 (14.04.94), & EP, 663012, A1 & AU, 9352956, A & US, 5539092, A & US, 5756290, A & US, 5792627, A & US, 5972644, A Figs. 2,3; sequence No. 6 | 2,19,20,49 |
| Y | WO, 96/32484, A2 (Arch Dev. Corp.), & EP, 820514, A1 & AU, 9655432, A & US, 5910626, A Claim 32; sequence No. 8 | 2,19,20,49 |
| Y | Biosci. Biotechnol. Biochem., Vol.60(1996), E. Kimura et al., "Molecular cloning of a novel gene, <i>dtsR</i> , which rescues the detergent sensitivity of a mutant derived from <i>Brevibacterium lactofermentum</i> " pp.1565-1570 | 3,4,21-24,49 |
| Y | WO, 95/23224, A1 (Ajinomoto Co., Inc.), 31 August, 1995 (31.08.95), & EP, 752472, A1 & BR, 9506883, A & US, 5929221, A & DE, 69514914, B Claim 2, sequence No. 2 | 3,4,21-24,49 |
| Y | JP, 10-234371, A (Ajinomoto Co., Inc.), 08 September, 1998 (08.09.98) (Family: none) | 3,4,21-24,49 |
| Y | JP, 7-121227, B2 (KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD.), 25 December, 1995 (25.12.95) (Family: none) | 5,25,26,49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol.178(1996) A. M. Alves et al., "Characterization and phylogeny of the <i>pfp</i> gene of <i>Amycolatopsis methanolica</i> encoding PPI-dependent phosphofructokinase" pp.149-155 | 5,25,26,49 |
| Y | Appl. Environ. Microbiol., Vol.63(1997), A.M.C.R.Alves et al., "Identification of ATP-dependent phosphofructokinase as a regulatory step in the glycolytic pathway of the actinomyete <i>Streptomyces</i> <i>coelicolor</i> A3(2)" pp.951-956 | 5,25,26,49 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06913

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| Y | J. Bacteriol., Vol.177(1995) W. Kronmeyer et al. "Structure of the <i>gluABCD</i> cluster encoding the glutamate uptake system of <i>Corynebacterium glutamicum</i> ", pp.1152-1158 | 7,29,30,49 |
| Y | Eur. J. Biochem., Vol.227[1-2](1995), C. Rollin et al., "13C-NMR studies of <i>Corynebacterium melassecola</i> metabolic pathways" pp.488-493 | 8,31,32,49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol.176(1994), S. Hein et al., "Biochemical and molecular characterization of the <i>Alcaligenes eutrophus</i> pyruvate dehydrogenase complex and identification of new type of dihydrolipoamide dehydrogenase", pp.4394-4408 | 8,31,32,49 |
| Y | Eur. J. Biochem., vol.133(1983), P. E. Stephens et al., "The pyruvate dehydrogenase complex of <i>Escherichia coli</i> K12. Nucleotide sequence encoding the pyruvate dehydrogenase component", pp.155-162 | 8,31,32,49 |
| Y | WO, 99/18228, A2 (Forschungszentrum Juelich GmbH), 15 April, 1999 (15.04.99), & EP, 10125621, A2 & AU, 9911482, A & ZA, 9809014, A & DE, 19831609, A1 & SK, 200000481, A & BR, 9813021, A Claims 15, 18; sequence No. 2 | 9,33,34,49 |
| Y | JP, 10-165180, A (Ajinomoto Co., Inc.), 23 June, 1998 (23.06.98), & EP, 857784, A2 & SK, 9701635, A & HU, 9702361, A2 & BR, 9706058, A | 10,35,36,49 |
| Y | JP, 2-291276, A (Degussa AG.), 18 April, 1990 (18.04.90), & EP, 358940, A1 & GB, 2223754, A & DE, 68924227, B | 10,35,36,49 |
| Y | JP, 11-196887, A (Mitsubishi Chemical Corporation), 27 July, 1999 (27.07.99) (Family: none) | 10,35,36,49 |
| Y | JP, 8-66189, A (Mitsubishi Chemical Corporation), 12 March, 1996 (12.03.96) (Family: none) | 10,35,36,49 |
| Y | MIKROBIOLOGIA, Vol.56[5](1987), M. P. Ruklish et al., "The functioning of the tricarboxylic acid cycle in <i>Brevibacterium flavum</i> and <i>Micrococcus glutamicus</i> ", pp.759-763 | 11,37,38,49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol.175(1993), J. M. Mengaud et al., "The major iron-containing protein of <i>Legionella pneumophila</i> is an aconitase homologous with the human iron-responsive element-binding protein" pp.5666-5676 | 11,37,38,49 |
| Y | Eur. J. Biochem. Vol.204(1992), c. Prodromou et al., "The aconitase of <i>Escherichia coli</i> . Nucleotide sequence of the aconitase gene and amino acid sequence similarity with mitochondrial isopropylmalate isomerases", pp.599-609 | 11,37,38,49 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06913

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| Y | J. Bacteriol., Vol.177(1995), B. J. Eikmanns et al., "Cloning, sequence analysis, expression, and inactivation of the <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>icd</i> gene encoding isocitrate dehydrogenase and biochemical characterization of the enzyme", pp.774-782 | 12,39,40,49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol.175(1993), A. Ishi et al., "Genes encoding two isocitrate dehydrogenase isozymes of a psychrophilic bacterium, <i>Vibrio</i> sp. Strain ABE-1", pp.6873-6880 | 12,39,40,49 |
| Y | Genbank, Acc. No. Y16642(01 February, 1999), B. J. Eikmanns et al., " <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>lpd</i> gene, complete CDS" | 13,41,42,49 |
| Y | WO, 97/48790, A1 (Ajinomoto Co., Inc.), 24 December, 1997 (24.12.97), & JP, 10-87, A & EP, 974647, A1 Claims; pages 38-40; sequence No. 7 | 14,43,44,49 |
| Y | WO, 95/34672, A1 (Ajinomoto Co., Inc.), 21 December, 1995 (21.12.95), & US, 5977331, A & EP, 771879, A1 Claims; sequence Nos. 1, 2 | 14,43,44,49 |
| Y | Mol. Microbiol., Vol.,6(1992), E. R. Boermann et al., "Molecular analysis of the <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>gdh</i> gene encoding glutamate dehydrogenase", pp.317-326 | 15,45,46,49 |
| Y | JP, 6-502548, A (Orsan), 24 March, 1994 (24.03.94), & EP, 551506, A1 & WO, 93/03158, A1 & FR, 2679921, A1 & FR, 2679922, A1 & US, 6027920, A | 15,45,46,49 |
| Y | Microbiology, Vol.140(1994), B. J. Eikmanns et al., "Nucleotide sequence, expression and transcriptional analysis of the <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>glta</i> gene encoding citrate synthase", pp.1817-1828 | 16,47,48,49 |
| Y | Mol. Microbil., Vol.11(1994), M. A. Pardo et al., "Nodulation ability of <i>Rhizobium tropici</i> is conditioned by a plasmid-encoded citrate synthase", pp.315-321 | 16,47,48,49 |
| Y | JP, 8-196280, A (Ajinomoto Co., Inc.), 06 August, 1996 (06.08.96), & EP, 724017, A2 & FR, 2729970, A & SK, 9600112, A & ZA, 9600656, A & BR, 9600268, A | 6,27,28,49 |
| Y | JP, 5-244958, A (Ajinomoto Co., Ltd.), 24 September, 1993 (24.09.93), & US, 5556776, A | 6,27,28,49 |

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' C12N15/60, C12N15/54, C12N15/53, C12N15/31,
C12N15/56, C12N9/88, C12N9/12, C12N9/04, C07K14/34,
C12N9/26, C12P13/04

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' C12N15/60, C12N15/54, C12N15/53, C12N15/31,
C12N15/56, C12N9/88, C12N9/12, C12N9/04, C07K14/34,
C12N9/26, C12P13/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JICSTファイル(JOIS), WPI(DIALOG), BIOSIS(DIALOG),
MEDLINE (STN),
EMBL/DBJ/Genbank/PIR/Swissprot/Geneseq

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|---|------------------|
| Y | JP, 7-63383, B2 (味の素株式会社) 12. 7月. 1995 (12. 07. 95) &FR, 2612937, A &US, 5250434, A &AU, 8811614, A &BR, 8801289, A &KR, 9606580, A | 1-49 |
| Y | JP, 4-4887, A (味の素株式会社) 9. 1月. 1992 (09. 01. 92) &FR, 2661191, A &US, 5250423, A | 1-49 |

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に関する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

19. 12. 00

国際調査報告の発送日

26.12.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

上條 肇

4B

9453

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|---|------------------|
| Y | Microbiology, Vol. 144[5] (1998) K. Takai <i>et al.</i> "ppc, the gene for phosphoenolpyruvate carboxylase from an extremely thermophilic bacterium, <i>Rhodothermus obamensis</i> : Cloning, sequenceing and overexpression in <i>Escherichia</i> <i>coli</i> " p. 1423-1434 | 1-49 |
| Y | J P, 5-56782, A (味の素株式会社) 9. 3月. 1993 (09. 03. 93) &EP, 530765, A2 &US, 5700661, A &CA, 2077308, A &US, 5439822, A &TW, 260709, A &DE, 69217144, B | 1, 17, 18, 49 |
| Y | WO, 92/18635, A1 (Commonwealth Sci. & Ind. Res. Org.) 29. 10月. 1992 (29. 10. 92) &ZA, 9202761, A &AU, 9215771, A &NZ, 242370, A 第5図, Table4参照 | 1, 17, 18, 49 |
| Y | Gene, Vol. 145[1] (1994) D. Wereecke <i>et al.</i> "Cloning and sequence analysis of the gene encoding isocitrate lyase from <i>Rhodococcus fascians</i> " p. 109-114 | 1, 17, 18, 49 |
| Y | Arch. Microbiol, Vol. 166[2] (1996) W. Jager <i>et al.</i> "A <i>Corynebacterium glutamicum</i> gene encoding a two-domain protein similar to biotin carboxylases and biotin-carboxyl -carrier proteins" p. 977-984 | 2, 19, 20, 49 |
| Y | Mol. Microbiol, Vol. 19 (1996) S. Donadio <i>et al.</i> "Erythromycin production in <i>Saccharopolyspora erythraea</i> does not require a functional propionyl-CoA carbocylase" p. 977-984 | 2, 19, 20, 49 |
| Y | WO, 94/08016, A1 (Arch Dev. Corp.) 14. 4月. 1994 (14. 04. 94) &EP, 663012, A1 &AU, 9352956, A &US, 5539092, A &US, 5756290, A &US, 5792627, A &US, 5972644, A 第2, 3図, 配列番号6参照 | 2, 19, 20, 49 |
| Y | WO, 96/32484, A2 (Arch Dev. Corp.) 17. 10月. 1996 (17. 10. 96) &EP, 820514, A1 &AU, 9655432, A &US, 5910626, A 請求項32, 配列番号8参照 | 2, 19, 20, 49 |
| Y | Biosci. Biotechnol. Biochem., Vol. 60 (1996) E. Kimura <i>et al.</i> "Molecular cloning of a novel gene, <i>dtSR</i> , which rescues the detergent sensitivity of a mutant derived from <i>Brevibacterium lactofermentum</i> " p. 1565-1570 | 3, 4, 21-24, 49 |
| Y | WO, 95/23224, A1 (Ajinomoto Co. Inc.) 31. 8月. 1995 (31. 08. 95) &EP, 752472, A1 &BR, 9506883, A &US, 5929221, A &DE, 69514914, B 請求項2, 配列番号2参照 | 3, 4, 21-24, 49 |

| C (続き) . 関連すると認められる文献 | | |
|-----------------------|---|------------------|
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
| Y | J P, 10-234371, A (味の素株式会社) 8. 9月. 1998 (08. 09. 98) (ファミリー無し) | 3, 4, 21-24, 49 |
| Y | J P, 7-121227, B2 (協和醗酵工業株式会社) 25. 12月. 1995 (25. 12. 95) (ファミリー無し) | 5, 25, 26, 49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol. 178(1996) A. M. Alves <i>et al.</i> "Characterization and phylogeny of the <i>pfp</i> gene of <i>Amycolatopsis methanolica</i> encoding PPI-dependent phosphofructokinase" p. 149-155 | 5, 25, 26, 49 |
| Y | Appl. Environ. Microbiol., Vol. 63(1997) A. M. C. R. Alves <i>et al.</i> "Identification of ATP-dependent phosphofructokinase as a regulatory step in the glycolytic pathway of the actinomycete <i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2)" p. 951-956 | 5, 25, 26, 49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol. 177(1995) W. Kronmeyer <i>et al.</i> "Structure of the <i>gluABCD</i> cluster encoding the glutamate uptake system of <i>Corynebacterium glutamicum</i> " p. 1152-1158 | 7, 29, 30, 49 |
| Y | Eur. J. Biochem., Vol. 227[1-2](1995) C. Rollin <i>et al.</i> " ¹³ C-NMR studies of <i>Corynebacterium melassecola</i> metabolic pathways" p. 488-493 | 8, 31, 32, 49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol. 176(1994) S. Hein <i>et al.</i> "Biochemical and molecular characterization of the <i>Alcaligenes eutrophus</i> pyruvate dehydrogenase complex and identification of a new type of dihydrolipoamide dehydrogenase" p. 4394-4408 | 8, 31, 32, 49 |
| Y | Eur. J. Biochem., Vol. 133(1983) P. E. Stephens <i>et al.</i> "The pyruvate dehydrogenase complex of <i>Escherichia coli</i> K12. Nucleotide sequence encoding the pyruvate dehydrogenase component" p. 155-162 | 8, 31, 32, 49 |
| Y | WO, 99/18228, A2 (Forschungszentrum Juelich GMBH) 15. 4月. 1999 (15. 04. 99) &EP, 10125621, A2 &AU, 9911482, A &ZA, 9809014, A &DE, 19831609, A1 &SK, 200000481, A &BR, 9813021, A 請求項15, 18, 配列番号2 | 9, 33, 34, 49 |
| Y | J P, 10-165180, A (味の素株式会社) 23. 6月. 1998 (23. 06. 98) &EP, 857784, A2 &SK, 9701635, A &HU, 9702361, A2 &BR, 9706058, A | 10, 35, 36, 49 |
| Y | J P, 2-291276, A (Degussa AG.) 18. 4月. 1990 (18. 04. 90) &EP, 358940, A1 &GB, 2223754, A &DE, 68924227, B | 10, 35, 36, 49 |

| C (続き) . 関連すると認められる文献 | | |
|-----------------------|---|------------------|
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
| Y | J P, 11-196887, A (三菱化学株式会社) 27. 7月. 1999 (27. 07. 99) (ファミリー無し) | 10, 35, 36, 49 |
| Y | J P, 8-66189, A (三菱化学株式会社) 12. 3月. 1996 (12. 03. 96) (ファミリー無し) | 10, 35, 36, 49 |
| Y | MIKROBIOLOGIYA, Vol. 56[5] (1987) M. P. Ruklish <i>et al.</i> "The functioning of the tricarboxylic acid cycle in <i>Brevibacterium flavum</i> and <i>Micrococcus glutamicus</i> " p. 759-763 | 11, 37, 38, 49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol. 175 (1993) J. M. Mengaud <i>et al.</i> "The major iron-containing protein of <i>Legionella</i> <i>pneumophila</i> is an aconitase homologous with the human iron- responsive element-binding protein" p. 5666-5676 | 11, 37, 38, 49 |
| Y | Eur. J. Biochem., Vol. 204 (1992) C. Prodromou <i>et al.</i> "The aconitase of <i>Escherichia coli</i> . Nucleotide sequence of the aconitase gene and amino acid sequence similarity with mitochondrial isopropylmalate isomerases" p. 599-609 | 11, 37, 38, 49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol. 177 (1995) B. J. Eikmanns <i>et al.</i> "Cloning, sequence analysis, expression, and inactivation of the <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>icd</i> gene encoding isocitrate dehydrogenase and biochemical characterization of the enzyme" p. 774-782 | 12, 39, 40, 49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol. 175 (1993) A. Ishii <i>et al.</i> "Genes encoding two isocitrate dehydrogenase isozymes of a psychrophilic bacterium, <i>Vibrio</i> sp. strain ABE-1" p. 6873-6880 | 12, 39, 40, 49 |
| Y | Genbank, Acc. No. Y16642 (1999-Feb-01) B. J. Eikmanns <i>et al.</i> " <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>lpd</i> gene, complete CDS" | 13, 41, 42, 49 |
| Y | WO, 97/48790, A1 (味の素株式会社) 24. 12月. 1997 (24. 12. 97) & J P, 10-87, A & EP, 974647, A1 特許請求の範囲, 38-40頁, 配列番号7 | 14, 43, 44, 49 |
| Y | WO, 95/34672, A1 (味の素株式会社) 21. 12月. 1995 (21. 12. 95) & US, 5977331, A & EP, 771879, A1 特許請求の範囲, 配列番号1, 2 | 14, 43, 44, 49 |
| Y | Mol. Microbiol., Vol. 6 (1992) E. R. Boermann <i>et al.</i> "Molecular analysis of the <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>gdh</i> gene encoding glutamate dehydrogenase" p. 317-326 | 15, 45, 46, 49 |

| C (続き) . 関連すると認められる文献 | | |
|-----------------------|--|------------------|
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
| Y | J P, 6-502548, A (Orsan) 24. 3月. 1994 (24. 03. 94) &EP, 551506, A1 &WO, 93/03158, A1 &FR, 2679921, A1 &FR, 2679922, A1 &US, 6027920, A | 15, 45, 46, 49 |
| Y | Microbiology, Vol. 140(1994) B. J. Eikmanns <i>et al.</i> "Nucleotide sequence, expression and transcriptional analysis of the <i>Corynebacterium glutamicum gltA</i> gene encoding citrate syntase" p. 1817-1828 | 16, 47, 48, 49 |
| Y | Mol. Microbiol, Vol. 11(1994) M. A. Pardo <i>et al.</i> "Nodulating ability of <i>Rhizobium tropici</i> is conditioned by a plasmid- encoded citrate syntase" p. 315-321 | 16, 47, 48, 49 |
| Y | J P, 8-196280, A (味の素株式会社) 6. 8月. 1996 (06. 08. 96) &EP, 724017, A2 &FR, 2729970, A &SK, 9600112, A &ZA, 9600656, A &BR, 9600268, A | 6, 27, 28, 49 |
| Y | J P, 5-244958, A (味の素株式会社) 24. 9月. 1993 (24. 09. 93) &US, 5556776, A | 6, 27, 28, 49 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)



PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner
US Department of Commerce
United States Patent and Trademark
Office, PCT
2011 South Clark Place Room
CP2/5C24
Arlington, VA 22202
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

| | |
|---|---|
| Date of mailing (day/month/year) 06 July 2001 (06.07.01) | |
| International application No. PCT/JP00/06913 | Applicant's or agent's file reference B691SMOP1072 |
| International filing date (day/month/year) 04 October 2000 (04.10.00) | Priority date (day/month/year) 04 October 1999 (04.10.99) |
| Applicant HIRANO, Seiko et al | |

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

10 April 2001 (10.04.01)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Henrik Nyberg

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING OF A CHANGE

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

TOYAMA, Tsutomu
Yokoyama Building 6th floor
4-10, Higashi Nihonbashi 3-chome
Chuo-ku, Tokyo 103-0004
JAPON

Date of mailing (day/month/year)
09 April 2002 (09.04.02)

Applicant's or agent's file reference
B691SMOP1072

International application No.
PCT/JP00/06913

IMPORTANT NOTIFICATION

International filing date (day/month/year)
04 October 2000 (04.10.00)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address

NAKAMATSU, Tsuyoshi
C/O Ajinomoto Co., Inc.
Fermentation & Biotechnology
Laboratories
1-1, Suzuki-cho, Kawasaki-ku
Kawasaki-shi, Kanagawa 210-8681
Japan

State of Nationality
JP

State of Residence
JP

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☐ the name ☒ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address

NAKAMATSU, Tsuyoshi
c/o Tokyo Denki University
Department of Materials Science
and Engineering
2-2, Kanda Nishiki-cho
Chiyoda-ku, Tokyo 101-0054
Japan

State of Nationality
JP

State of Residence
JP

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office ☐ the designated Offices concerned
☐ the International Searching Authority ☒ the elected Offices concerned
☐ the International Preliminary Examining Authority ☐ other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Shinji IGARASHI

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

THIS PAGE BLANK (USPTO)

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
[PCT18条、PCT規則43、44]

| | | | |
|-----------------------------------|----------------------------------|---|--|
| 出願人又は代理人 の書類記号 | B 6 9 1 SMOP 1 0 7 2 | 今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。 | |
| 国際出願番号 PCT/J P 0 0 / 0 6 9 1 3 | 国際出願日 (日.月.年) 0 4 . 1 0 . 0 0 | 優先日 (日.月.年) 0 4 . 1 0 . 9 9 | |
| 出願人 (氏名又は名称) 味 の 素 株 式 会 社 | | | |

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 6 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

Page 1

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C12N15/60, C12N15/54, C12N15/53, C12N15/31,
C12N15/56, C12N9/88, C12N9/12, C12N9/04, C07K14/34,
C12N9/26, C12N13/04

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C12N15/60, C12N15/54, C12N15/53, C12N15/31,
C12N15/56, C12N9/88, C12N9/12, C12N9/04, C07K14/34,
C12N9/26, C12N13/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JICSTファイル (JOIS), WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG),
MEDLINE (STN),
EMBL/DDBJ/Genbank/PIR/Swissprot/Geneseq

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|---|------------------|
| Y | JP, 7-63383, B2 (味の素株式会社) 12. 7月. 1995 (12. 07. 95) &FR, 2612937, A &US, 5250434, A &AU, 8811614, A &BR, 8801289, A &KR, 9606580, A | 1-49 |
| Y | JP, 4-4887, A (味の素株式会社) 9. 1月. 1992 (09. 01. 92) &FR, 2661191, A &US, 5250423, A | 1-49 |

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

19. 12. 00

国際調査報告の発送日

26.12.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

上條 肇



4B

9453

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

| C (続き) . 関連すると認められる文献 | | |
|-----------------------|--|------------------|
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
| Y | Microbiology, Vol. 144[5] (1998) K. Takai <i>et al.</i> "ppc, the gene for phosphoenolpyruvate carboxylase from an extremely thermophilic bacterium, <i>Rhodothermus obamensis</i> : Cloning, sequencing and overexpression in <i>Escherichia coli</i> " p. 1423-1434 | 1-49 |
| Y | J P, 5-56782, A (味の素株式会社) 9. 3月. 1993 (09. 03. 93) & EP, 530765, A2 & US, 5700661, A & CA, 2077308, A & US, 5439822, A & TW, 260709, A & DE, 69217144, B | 1, 17, 18, 49 |
| Y | WO, 92/18635, A1 (Commonwealth Sci. & Ind. Res. Org.) 29. 10月. 1992 (29. 10. 92) & ZA, 9202761, A & AU, 9215771, A & NZ, 242370, A 第5図, Table4参照 | 1, 17, 18, 49 |
| Y | Gene, Vol. 145[1] (1994) D. Werecke <i>et al.</i> "Cloning and sequence analysis of the gene encoding isocitrate lyase from <i>Rhodococcus fascians</i> " p. 109-114 | 1, 17, 18, 49 |
| Y | Arch. Microbiol, Vol. 166[2] (1996) W. Jager <i>et al.</i> "A <i>Corynebacterium glutamicum</i> gene encoding a two-domain protein similar to biotin carboxylases and biotin-carboxyl -carrier proteins" p. 977-984 | 2, 19, 20, 49 |
| Y | Mol. Microbiol, Vol. 19 (1996) S. Donadio <i>et al.</i> "Erythromycin production in <i>Saccharopolyspora erythraea</i> does not require a functional propionyl-CoA carbocylase" p. 977-984 | 2, 19, 20, 49 |
| Y | WO, 94/08016, A1 (Arch Dev. Corp.) 14. 4月. 1994 (14. 04. 94) & EP, 663012, A1 & AU, 9352956, A & US, 5539092, A & US, 5756290, A & US, 5792627, A & US, 5972644, A 第2, 3図, 配列番号6参照 | 2, 19, 20, 49 |
| Y | WO, 96/32484, A2 (Arch Dev. Corp.) 17. 10月. 1996 (17. 10. 96) & EP, 820514, A1 & AU, 9655432, A & US, 5910626, A 請求項32, 配列番号8参照 | 2, 19, 20, 49 |
| Y | Biosci. Biotechnol. Biochem., Vol. 60 (1996) E. Kimura <i>et al.</i> "Molecular cloning of a novel gene, <i>dtsR</i> , which rescues the detergent sensitivity of a mutant derived from <i>Brevibacterium lactofermentum</i> " p. 1565-1570 | 3, 4, 21-24, 49 |
| Y | WO, 95/23224, A1 (Ajinomoto Co. Inc.) 31. 8月. 1995 (31. 08. 95) & EP, 752472, A1 & BR, 9506883, A & US, 5929221, A & DE, 69514914, B 請求項2, 配列番号2参照 | 3, 4, 21-24, 49 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

| C (続き) 関連すると認められる文献 | | |
|---------------------|---|------------------|
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
| Y | J P, 10-234371, A (味の素株式会社) 8. 9月. 1998 (08. 09. 98) (ファミリー無し) | 3, 4, 21-24, 49 |
| Y | J P, 7-121227, B2 (協和醗酵工業株式会社) 25. 12月. 1995 (25. 12. 95) (ファミリー無し) | 5, 25, 26, 49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol. 178(1996) A. M. Alves <i>et al.</i> "Characterization and phylogeny of the <i>pfp</i> gene of <i>Amycolatopsis methanolica</i> encoding PPI-dependent phosphofructokinase" p. 149-155 | 5, 25, 26, 49 |
| Y | Appl. Environ. Microbiol., Vol. 63(1997) A. M. C. R. Alves <i>et al.</i> "Identification of ATP-dependent phosphofructokinase as a regulatory step in the glycolytic pathway of the actinomycete <i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2)" p. 951-956 | 5, 25, 26, 49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol. 177(1995) W. Kronmeyer <i>et al.</i> "Structure of the <i>gluABCD</i> cluster encoding the glutamate uptake system of <i>Corynebacterium glutamicum</i> " p. 1152-1158 | 7, 29, 30, 49 |
| Y | Eur. J. Biochem., Vol. 227[1-2](1995) C. Rollin <i>et al.</i> " ¹³ C-NMR studies of <i>Corynebacterium melassecola</i> metabolic pathways" p. 488-493 | 8, 31, 32, 49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol. 176(1994) S. Hein <i>et al.</i> "Biochemical and molecular characterization of the <i>Alcaligenes eutrophus</i> pyruvate dehydrogenase complex and identification of a new type of dihydrolipoamide dehydrogenase" p. 4394-4408 | 8, 31, 32, 49 |
| Y | Eur. J. Biochem., Vol. 133(1983) P. E. Stephens <i>et al.</i> "The pyruvate dehydrogenase complex of <i>Escherichia coli</i> K12. Nucleotide sequence encoding the pyruvate dehydrogenase component" p. 155-162 | 8, 31, 32, 49 |
| Y | WO, 99/18228, A2 (Forschungszentrum Juelich GMBH) 15. 4月. 1999 (15. 04. 99) & EP, 10125621, A2 & AU, 9911482, A & ZA, 9809014, A & DE, 19831609, A1 & SK, 200000481, A & BR, 9813021, A 請求項15, 18, 配列番号2 | 9, 33, 34, 49 |
| Y | J P, 10-165180, A (味の素株式会社) 23. 6月. 1998 (23. 06. 98) & EP, 857784, A2 & SK, 9701635, A & HU, 9702361, A2 & BR, 9706058, A | 10, 35, 36, 49 |
| Y | J P, 2-291276, A (Degussa AG.) 18. 4月. 1990 (18. 04. 90) & EP, 358940, A1 & GB, 2223754, A & DE, 68924227, B | 10, 35, 36, 49 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

| C (続き) . 関連すると認められる文献 | | |
|-----------------------|---|------------------|
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
| Y | J P, 11-196887, A (三菱化学株式会社) 27. 7月. 1999 (27. 07. 99) (ファミリー無し) | 10, 35, 36, 49 |
| Y | J P, 8-66189, A (三菱化学株式会社) 12. 3月. 1996 (12. 03. 96) (ファミリー無し) | 10, 35, 36, 49 |
| Y | MIKROBIOLOGIYA, Vol. 56[5](1987) M. P. Ruklish <i>et al.</i> "The functioning of the tricarboxylic acid cycle in <i>Brevibacterium flavum</i> and <i>Micrococcus glutamicus</i> " p. 759-763 | 11, 37, 38, 49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol. 175(1993) J. M. Mengaud <i>et al.</i> "The major iron-containing protein of <i>Legionella</i> <i>pneumophila</i> is an aconitase homologous with the human iron -responsive element-binding protein" p. 5666-5676 | 11, 37, 38, 49 |
| Y | Eur. J. Biochem., Vol. 204(1992) C. Prodromou <i>et al.</i> "The aconitase of <i>Escherichia coli</i> . Nucleotide sequence of the aconitase gene and amino acid sequence similarity with mitochondrial isopropylmalate isomerases" p. 599-609 | 11, 37, 38, 49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol. 177(1995) B. J. Eikmanns <i>et al.</i> "Cloning, sequence analysis, expression, and inactivation of the <i>Corynebacterium glutamicum icd</i> gene encoding isocitrate dehydrogenase and biochemical characterization of the enzyme" p. 774-782 | 12, 39, 40, 49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol. 175(1993) A. Ishii <i>et al.</i> "Genes encoding two isocitrate dehydrogenase isozymes of a psychrophilic bacterium, <i>Vibrio</i> sp. strain ABE-1" p. 6873-6880 | 12, 39, 40, 49 |
| Y | Genbank, Acc. No. Y16642(1999-Feb-01) B. J. Eikmanns <i>et al.</i> " <i>Corynebacterium glutamicum lpd</i> gene, complete CDS" | 13, 41, 42, 49 |
| Y | WO, 97/48790, A1 (味の素株式会社) 24. 12月. 1997 (24. 12. 97) & J P, 10-87, A & EP, 974647, A1 特許請求の範囲, 38-40頁, 配列番号7 | 14, 43, 44, 49 |
| Y | WO, 95/34672, A1 (味の素株式会社) 21. 12月. 1995 (21. 12. 95) & US, 5977331, A & EP, 771879, A1 特許請求の範囲, 配列番号1, 2 | 14, 43, 44, 49 |
| Y | Mol. Microbiol., Vol. 6(1992) E. R. Boermann <i>et al.</i> "Molecular analysis of the <i>Corynebacterium glutamicum gdh</i> gene encoding glutamate dehydrogenase" p. 317-326 | 15, 45, 46, 49 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

C (続き) . 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|---|------------------|
| Y | J P, 6-502548, A (Orsan) 24. 3月. 1994 (24. 03. 94) &EP, 551506, A1 &WO, 93/03158, A1 &FR, 2679921, A1 &FR, 2679922, A1 &US, 6027920, A | 15, 45, 46, 49 |
| Y | Microbiology, Vol. 140 (1994) B. J. Eikmanns <i>et al.</i> "Nucleotide sequence, expression and transcriptional analysis of the <i>Corynebacterium glutamicum gltA</i> gene encoding citrate syntase" p. 1817-1828 | 16, 47, 48, 49 |
| Y | Mol. Microbiol. Vol. 11 (1994) M. A. Pardo <i>et al.</i> "Nodulating ability of <i>Rhizobium tropici</i> is conditioned by a plasmid- encoded citrate syntase" p. 315-321 | 16, 47, 48, 49 |
| Y | J P, 8-196280, A (味の素株式会社) 6. 8月. 1996 (06. 08. 96) &EP, 724017, A2 &FR, 2729970, A &SK, 9600112, A &ZA, 9600656, A &BR, 9600268, A | 6, 27, 28, 49 |
| Y | J P, 5-244958, A (味の素株式会社) 24. 9月. 1993 (24. 09. 93) &US, 5556776, A | 6, 27, 28, 49 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06913

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12N15/60, C12N15/54, C12N15/53, C12N15/31, C12N15/56, C12N9/88,
C12N9/12, C12N9/04, C07K14/34, C12N9/26, C12P13/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N15/60, C12N15/54, C12N15/53, C12N15/31, C12N15/56, C12N9/88,
C12N9/12, C12N9/04, C07K14/34, C12N9/26, C12P13/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JICST FILE (JOIS), WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG), MEDLINE (STN),
EMBL/DDBJ/Genbank/PIR/Swissprot/Geneseq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| Y | JP, 7-63383, B2, (Ajinomoto Co., Inc.), 12 July, 1995 (12.07.95), & FR, 2612937, A & US, 5250434, A & AU, 8811614, A & BR, 8801289, A & KR, 9606580, A | 1-49 |
| Y | JP, 4-4887, A (Ajinomoto Co., Inc.), 09 January, 1992 (09.01.92), & FR, 2661191, A & US, 5250423, A | 1-49 |
| Y | Microbiology, Vol.144 [5] (1998), K. Takai et al., "ppc, the gene for phosphoenolpyruvate carboxylase from an extremely thermophilic bacterium, <i>Rhodothermus obamensis</i> : Cloning, sequencing and overexpression in <i>Escherichia coli</i> ", pp.1423-1434 | 1-49 |
| Y | JP, 5-56782, A (Ajinomoto Co., Inc.), 09 March, 1993 (09.03.93), & EP, 530765, A2 & US, 57700661, A & CA, 2077308, A & US, 5439822, A & TW, 260709, A & DE, 69217144, B | 1, 17, 18, 49 |

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

| | |
|---|---|
| * Special categories of cited documents: | "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention |
| "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance | "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone |
| "E" earlier document but published on or after the international filing date | "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art |
| "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) | "&" document member of the same patent family |
| "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means | |
| "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed | |

Date of the actual completion of the international search
19 December, 2000 (19.12.00)

Date of mailing of the international search report
26 December, 2000 (26.12.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06913

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| Y | WO, 92/18635, A1 (Commonwealth Sci. & Ind. Res. Org.), 29 October, 1992 (29.10.92), & ZA, 9202761, A & AU, 9215771, A & NZ, 242370, A Fig. 5; Table 4 | 1, 17, 18, 49 |
| Y | Gene, Vol.145[1] (1994) D.Wereecke et al. "Cloning and sequence analysis of the gene encoding isocitrate lyase from <i>Rhodococcus fascians</i> " pp.109-114 | 1, 17, 18, 19 |
| Y | Arch. Microbiol, Vol.166[2] (1996) W. Jager et al. "A <i>Corynebacterium glutamicum</i> gene encoding a two-domain protein similar to biotin carboxylases and biotin-carboxyl-carrier proteins" pp.977-984 | 2, 19, 20, 49 |
| Y | Mol. Microbiol, Vol.19(1996) S. Donadio et al. "Erythromycin production in <i>Saccharopolyspora erythraea</i> does not require a functional propionyl-CoA carbocylase" pp.977-984 | 2, 19, 20, 49 |
| Y | WO, 94/08016, A1 (Arch Dev. Corp.), 14 April, 1994 (14.04.94), & EP, 663012, A1 & AU, 9352956, A & US, 5539092, A & US, 5756290, A & US, 5792627, A & US, 5972644, A Figs. 2,3; sequence No. 6 | 2, 19, 20, 49 |
| Y | WO, 96/32484, A2 (Arch Dev. Corp.), & EP, 820514, A1 & AU, 9655432, A & US, 5910626, A Claim 32; sequence No. 8 | 2, 19, 20, 49 |
| Y | Biosci. Biotechnol. Biochem., Vol.60(1996), E. Kimura et al., "Molecular cloning of a novel gene, <i>dtsR</i> , which rescues the detergent sensitivity of a mutant derived from <i>Brevibacterium lactofermentum</i> " pp.1565-1570 | 3, 4, 21-24, 49 |
| Y | WO, 95/23224, A1 (Ajinomoto Co., Inc.), 31 August, 1995 (31.08.95), & EP, 752472, A1 & BR, 9506883, A & US, 5929221, A & DE, 69514914, B Claim 2, sequence No. 2 | 3, 4, 21-24, 49 |
| Y | JP, 10-234371, A (Ajinomoto Co., Inc.), 08 September, 1998 (08.09.98) (Family: none) | 3, 4, 21-24, 49 |
| Y | JP, 7-121227, B2 (KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD.), 25 December, 1995 (25.12.95) (Family: none) | 5, 25, 26, 49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol.178(1996) A. M. Alves et al., "Characterization and phylogeny of the <i>pfp</i> gene of <i>Amycolatopsis methanolica</i> encoding PPI-dependent phosphofructokinase" pp.149-155 | 5, 25, 26, 49 |
| Y | Appl. Environ. Microbiol., Vol.63(1997), A.M.C.R.Alves et al., "Identification of ATP-dependent phosphofructokinase as a regulatory step in the glycolytic pathway of the actinomycete <i>Streptomyces</i> <i>coelicolor</i> A3(2)" pp.951-956 | 5, 25, 26, 49 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06913

IC (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| Y | J. Bacteriol., Vol.177(1995) W. Kronmeyer et al. "Structure of the <i>gluABCD</i> cluster encoding the glutamate uptake system of <i>Corynebacterium glutamicum</i> ", pp.1152-1158 | 7,29,30,49 |
| Y | Eur. J. Biochem., Vol.227[1-2](1995), C. Rollin et al., "13C-NMR studies of <i>Corynebacterium melassecola</i> metabolic pathways" pp.488-493 | 8,31,32,49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol.176(1994), S. Hein et al., "Biochemical and molecular characterization of the <i>Alcaligenes eutrophus</i> pyruvate dehydrogenase complex and identification of new type of dihydrolipoamide dehydrogenase", pp.4394-4408 | 8,31,32,49 |
| Y | Eur. J. Biochem., vol.133(1983), P. E. Stephens et al., "The pyruvate dehydrogenase complex of <i>Escherichia coli</i> K12. Nucleotide sequence encoding the pyruvate dehydrogenase component", pp.155-162 | 8,31,32,49 |
| Y | WO, 99/18228, A2 (Forschungszentrum Juelich GmbH), 15 April, 1999 (15.04.99), & EP, 10125621, A2 & AU, 9911482, A & ZA, 9809014, A & DE, 19831609, A1 & SK, 200000481, A & BR, 9813021, A Claims 15, 18; sequence No. 2 | 9,33,34,49 |
| Y | JP, 10-165180, A (Ajinomoto Co., Inc.), 23 June, 1998 (23.06.98), & EP, 857784, A2 & SK, 9701635, A & HU, 9702361, A2 & BR, 9706058, A | 10,35,36,49 |
| Y | JP, 2-291276, A (Degussa AG.), 18 April, 1990 (18.04.90), & EP, 358940, A1 & GB, 2223754, A & DE, 68924227, B | 10,35,36,49 |
| Y | JP, 11-196887, A (Mitsubishi Chemical Corporation), 27 July, 1999 (27.07.99) (Family: none) | 10,35,36,49 |
| Y | JP, 8-66189, A (Mitsubishi Chemical Corporation), 12 March, 1996 (12.03.96) (Family: none) | 10,35,36,49 |
| Y | MIKROBIOLOGIA, Vol.56[5](1987), M. P. Ruklish et al., "The functioning of the tricarboxylic acid cycle in <i>Brevibacterium flavum</i> and <i>Micrococcus glutamicus</i> ", pp.759-763 | 11,37,38,49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol.175(1993), J. M. Mengaud et al., "The major iron-containing protein of <i>Legionella pneumophila</i> is an aconitase homologous with the human iron-responsive element-binding protein" pp.5666-5676 | 11,37,38,49 |
| Y | Eur. J. Biochem. Vol.204(1992), c. Prodromou et al., "The aconitase of <i>Escherichia coli</i> . Nucleotide sequence of the aconitase gene and amino acid sequence similarity with mitochondrial isopropylmalate isomerases", pp.599-609 | 11,37,38,49 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06913

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| Y | J. Bacteriol., Vol.177(1995), B. J. Eikmanns et al., "Cloning, sequence analysis, expression, and inactivation of the <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>icd</i> gene encoding isocitrate dehydrogenase and biochemical characterization of the enzyme", pp.774-782 | 12,39,40,49 |
| Y | J. Bacteriol., Vol.175(1993), A. Ishi et al., "Genes encoding two isocitrate dehydrogenase isozymes of a psychrophilic bacterium, <i>Vibrio</i> sp. Strain ABE-1", pp.6873-6880 | 12,39,40,49 |
| Y | Genbank, Acc. No. Y16642 (01 February, 1999), B. J. Eikmanns et al., " <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>lpd</i> gene, complete CDS" | 13,41,42,49 |
| Y | WO, 97/48790, A1 (Ajinomoto Co., Inc.), 24 December, 1997 (24.12.97), & JP, 10-87, A & EP, 974647, A1 Claims; pages 38-40; sequence No. 7 | 14,43,44,49 |
| Y | WO, 95/34672, A1 (Ajinomoto Co., Inc.), 21 December, 1995 (21.12.95), & US, 5977331, A & EP, 771879, A1 Claims; sequence Nos. 1, 2 | 14,43,44,49 |
| Y | Mol. Microbiol., Vol.,6(1992), E. R. Boermann et al., "Molecular analysis of the <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>gdh</i> gene encoding glutamate dehydrogenase", pp.317-326 | 15,45,46,49 |
| Y | JP, 6-502548, A (Orsan), 24 March, 1994 (24.03.94), & EP, 551506, A1 & WO, 93/03158, A1 & FR, 2679921, A1 & FR, 2679922, A1 & US, 6027920, A | 15,45,46,49 |
| Y | Microbiology, Vol.140(1994), B. J. Eikmanns et al., "Nucleotide sequence, expression and transcriptional analysis of the <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>gltA</i> gene encoding citrate synthase", pp.1817-1828 | 16,47,48,49 |
| Y | Mol. Microbil., Vol.11(1994), M. A. Pardo et al., "Nodulation ability of <i>Rhizobium tropici</i> is conditioned by a plasmid-encoded citrate synthase", pp.315-321 | 16,47,48,49 |
| Y | JP, 8-196280, A (Ajinomoto Co., Inc.), 06 August, 1996 (06.08.96), & EP, 724017, A2 & FR, 2729970, A & SK, 9600112, A & ZA, 9600656, A & BR, 9600268, A | 6,27,28,49 |
| Y | JP, 5-244958, A (Ajinomoto Co., Ltd.), 24 September, 1993 (24.09.93), & US, 5556776, A | 6,27,28,49 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCT COOPERATION TREATY

PCT

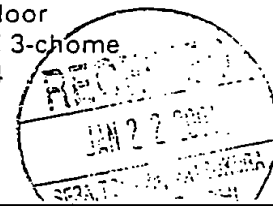
NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

TOYAMA, Tsutomu
Yokoyama Building 6th floor
4-10, Higashi Nihonbashi 3-chome
Chuo-ku, Tokyo 103-0004
JAPON



| | |
|--|--|
| Date of mailing (day/month/year) 15 January 2001 (15.01.01) | |
| Applicant's or agent's file reference B691SMOP1072 | IMPORTANT NOTIFICATION |
| International application No. PCT/JP00/06913 | International filing date (day/month/year) 04 October 2000 (04.10.00) |
| International publication date (day/month/year) Not yet published | Priority date (day/month/year) 04 October 1999 (04.10.99) |
| Applicant AJINOMOTO CO., INC. et al | |

1. The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
2. This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
3. An asterisk(*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
4. The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

| <u>Priority date</u> | <u>Priority application No.</u> | <u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u> | <u>Date of receipt of priority document</u> |
|-------------------------|---------------------------------|---|---|
| 04 Octo 1999 (04.10.99) | 11/282716 | JP | 08 Dece 2000 (08.12.00) |
| 01 Nove 1999 (01.11.99) | 11/311147 | JP | 08 Dece 2000 (08.12.00) |
| 21 Apri 2000 (21.04.00) | 2000/120687 | JP | 08 Dece 2000 (08.12.00) |

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Somsak Thiphrakesone

Telephone No. (41-22) 338.83.38

THIS PAGE BLANK (USPTO)

CORRECTED VERSION

From the INTERNATIONAL BUREAU

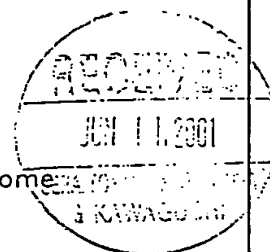
PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

To:

TOYAMA, Tsutomu
Yokoyama Building 6th floor
4-10, Higashi Nihonbashi 3-chome
Chuo-ku, Tokyo 103-0004
JAPON



| | | | |
|--|--|--|--|
| Date of mailing (day/month/year) 31 May 2001 (31.05.01) | | IMPORTANT NOTICE | |
| Applicant's or agent's file reference B691SMOP1072 | | | |
| International application No. PCT/JP00/06913 | International filing date (day/month/year) 04 October 2000 (04.10.00) | Priority date (day/month/year) 04 October 1999 (04.10.99) | |
| Applicant AJINOMOTO CO., INC. et al | | | |

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:

AU,KP,KR,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

AE,AG,AL,AM,AP,AT,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CR,CU,CZ,DE,DK,
DM,DZ,EA,EE,EP,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,
KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,OA,PL,PT,
RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,UZ,VN,YU,ZA,ZW

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on
12 April 2001 (12.04.01) under No. WO 01/25447

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the national phase, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

| | |
|---|---|
| The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland | Authorized officer Shinji IGARASHI |
| Facsimile No. (41-22) 740.14.35 | Telephone No. (41-22) 338.83.38 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

77
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

| | | |
|---|---|--|
| Applicant's or agent's file reference B69ISMOP1072 | FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416) | |
| International application No. PCT/JP00/06913 | International filing date (day/month/year) 04 October 2000 (04.10.00) | Priority date (day/month/year) 04 October 1999 (04.10.99) |
| International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/60, 15/54, 15/53, 15/31, 15/56, 9/88, 9/12, 9/04, C07K 14/34, C12N 9/26, C12P 13/04 | | |
| Applicant AJINOMOTO CO., INC. | | |

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 9 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

| | |
|--|---|
| Date of submission of the demand 10 April 2001 (10.04.01) | Date of completion of this report 28 September 2001 (28.09.2001) |
| Name and mailing address of the IPEA/JP | Authorized officer |
| Facsimile No. | Telephone No. |



THIS PAGE BLANK (USPTO)

I. Basis of the report**1. With regard to the elements of the international application:***

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☒ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☒ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

| | | | |
|-------------------------------|--------|------|-----|
| Novelty (N) | Claims | 1-49 | YES |
| | Claims | | NO |
| Inventive step (IS) | Claims | | YES |
| | Claims | 1-49 | NO |
| Industrial applicability (IA) | Claims | 1-49 | YES |
| | Claims | | NO |

2. Citations and explanations

Document 1: JP, 7-63383, B2 (12.07.95)

Document 2: JP, 4-4887, A (09.01.92)

Document 3: K. Takai et al., "ppc, the gene for phosphoenolpyruvate carboxylase from an extremely thermophilic bacterium, Rhodothermus obamensis: Cloning, sequencing and over-expression in Escherichia coli", Microbiology (1988), Vol. 144, No. 5, pp. 1423-1434

Document 4: JP, 5-56782, A (09.03.93)

Document 5: WO, 92/18635, A1 (29.10.92)

Document 6: D. Wereecke et al., "Cloning and sequence analysis of the gene encoding isocitrate lyase from Rhodococcus fascians", Gene (1994), Vol. 145, No. 1, pp. 109-114

Document 7: W. Jager et al., "A Corynebacterium glutamicum gene encoding a two-domain protein similar to biotin carboxylases and biotin-carboxyl-carrier proteins", Arch. Microbiol. (1996), Vol. 166, No. 2, pp. 977-984

Document 8: S. Donadio et al., "Erythromycin production in Saccharopolyspora erythrae does not require a functional propionyl-CoA carbocyclase", Mol. Microbiol. (1996), Vol. 19, pp. 977-984

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- Document 9: WO, 94/08016, A1 (14.04.94)
- Document 10: WO, 96/32484, A2 (17.10.96)
- Document 11: E. Kimura et al., "Molecular cloning of a novel gene, *dtsR*, which rescues the detergent sensitivity of a mutant derived from *Brevibacterium lactofermentum*", *Biosci. Biotechnol Biochem.* (1996), Vol. 60, pp. 1565-1570
- Document 12: WO, 95/23224, A1 (31.08.95)
- Document 13: JP, 10-234371, A (08.09.98)
- Document 14: JP, 7-121227, B2 (25.12.95)
- Document 15: A. M. Alves et al., "Characterization and phylogeny of the *pfp* gene of *Amycolatopsis methanolica* encoding P_{Pi}-dependent phosphofructokinase", *J. Bacteriol.* (1996), Vol. 178, pp. 149-155
- Document 16: A. M. C. R. Alves et al., "Identification of ATP-dependent phosphofructokinase as a regulatory step in the glycolytic pathway of the actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3 (2)", *Appl. Environ. Microbiol.* (1997), Vol. 63, pp. 951-956
- Document 17: JP, 8-196280, A (06.08.96)
- Document 18: JP, 5-244958, A (24.09.93)
- Document 19: W. Kronemyer et al., "Structure of the *gluABCD* cluster encoding the glutamate uptake system of *Corynebacterium glutamicum*", *J. Bacteriol.* (1995), Vol. 177, pp. 1152-1158
- Document 20: C. Rollin et al., "¹³C-NMR studies of *Corynebacterium melassecola* metabolic pathways", *Eur. J. Biochem.* (1995), Vol. 227, No. 1-2, pp. 488-493
- Document 21: S. Hein et al., "Biochemical and molecular characterization of the *Alcaligenes eutrophus* pyruvate dehydrogenase complex and

THIS PAGE BLANK (USPTO)

identification of a new type of dihydro-lipoamide dehydrogenase", J. Bacteriol. (1994), Vol. 176, pp. 4394-4408

Document 22: P. E. Stephens et al., "The pyruvate dehydrogenase complex of Escherichia coli K12. Nucleotide sequence encoding the pyruvate dehydrogenase component", Eur. J. Biochem. (1983), Vol. 133, pp. 152-162

Document 23: WO, 99/18228, A2 (15.04.99)

Document 24: JP, 10-165180, A (23.06.98)

Document 25: JP, 2-291276, A (18.04.90)

Document 26: JP, 11-196887, A (27.07.99)

Document 27: JP, 8-66189, A (12.03.96)

Document 28: M. P. Ruklish et al., "The functioning of the tricarboxylic acid cycle in Brevibacterium flavum and Micrococcus glutamicus", Mikrobiologiya (1987), Vol. 56, No. 5, pp. 759-763

Document 29: J. M. Mengaud et al., "The major iron-containing protein of Legionella pneumophila is an aconitase homologous with the human iron-responsive element-binding protein", J. Bacteriol. (1993), Vol. 175, pp. 5666-5676

Document 30: C. Prodromou et al., "The aconitase of Escherichia coli. Nucleotide sequence of the aconitase gene and amino acid sequence similarity with the mitochondrial isopropyl-malate isomerases", Eur. J. Biochem (1992), Vol. 204, pp. 588-609

Document 31: B. J. Eikmanns et al., "Cloning and sequence analysis, expression and inactivation of the Corynebacterium glutamicum icd gene encoding isocitrate dehydrogenase and biochemical characterization of the enzyme", J. Bacteriol. (1995), Vol. 177, pp. 774-782

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- Document 32: A. Ishii et al., "Genes encoding two isocitrate dehydrogenase isoenzymes of a psychrophilic bacterium, *Vibrio* sp. strain ABE-1", *J. Bacteriol.* (1993), Vol. 175, pp. 6873-6880
- Document 33: B. J. Eikmanns et al., "Corynebacterium glutamicum lpd gene, complete CDS", Genbank (1 February 1999), Acc. No. Y16642
- Document 34: WO, 97/48790, A1 (24.12.97)
- Document 35: WO, 95/34672, A1 (21.12.95)
- Document 36: E. R. Boermann et al., "Molecular analysis of *Corynebacterium glutamicum* gdh gene encoding glutamate dehydrogenase", *Mol. Microbiol.* (1992), Vol. 6, pp. 317-326
- Document 37: JP, 6-502548, A (24.03.94)
- Document 38: B. J. Eikmanns et al., "Nucleotide sequence, expression and transcriptional analysis of the *Corynebacterium glutamicum* gltA gene encoding citrate synthase", *Microbiology* (1994), Vol. 140, pp. 1817-1828
- Document 39: M. A. Pardo et al., "Nodulating ability of *Rhizobium tropici* is conditioned by a plasmid-encoded citrate synthase", *Mol. Microbiol.* (1994), Vol. 11, pp. 315-321

Claim 49

Documents 1 and 2 disclose methods for amino acid fermentation using the thermophilic bacterium *Corynebacterium thermoaminogenes*.

The disclosures in Documents 1 and 2 differ from the inventions set forth in Claims 1, 17 and 18 in the present application in that the former do not mention an isocitrate lyase of the specified amino acid sequence from *Corynebacterium thermoaminogenes* which contributes to amino acid synthesis, or a nucleic acid which encodes the

THIS PAGE BLANK (USPTO)

same.

However, it was known before the filing date of the present application that enzymes for industrial use are preferably heat-resistant enzymes, and cloning of heat-resistant enzymes from a thermophilic bacterium was a known problem; and Document 3 discloses a means for solving this problem by constructing a primer based on the nucleic acid sequence of the gene for a desired enzyme which contributes to amino acid synthesis in another, closely related, species, cloning the desired heat-resistant enzyme and determining the sequence of the gene coding the desired enzyme.

Documents 4-6 disclose amino acid sequences of bacterial isocitrate lyase from closely related species and sequences of the nucleic acid coding the same, and since construction of a primer and cloning do not entail any unexpected special difficulty for a person skilled in the art, the inventions set forth in Claims 1, 17 and 18 could be deduced easily by a person skilled in the art from Documents 1-6.

Production of transformant microorganisms using a cloned gene, and amino acid fermentation, were routine practices before the filing date of the present application; therefore, the same applies to Claim 49.

The fact that the resulting enzyme is heat-resistant is obvious given the nature of the microorganism from which it comes and cannot, therefore, be regarded as surprising.

Similarly, Documents 7-10 disclose amino acid sequences for acyl-CoA carboxylases and sequences of nucleic acid coding the same; Documents 11-13 disclose amino acid sequences for Dtsr and sequences of nucleic acid coding the same; Documents 14-16 disclose amino acid sequences for phosphofructokinase and sequences of nucleic

THIS PAGE BLANK (USPTO)

acid coding the same; Documents 17 and 18 disclose amino acid sequences for proteins which are able to bestow the ability to utilize sucrose, and sequences of nucleic acid coding the same; Claim 19 discloses amino acid sequences of proteins which have a function contributing to glutamic acid uptake, and sequences of nucleic acid coding the same; Documents 20-22 disclose amino acid sequences for pyruvate dehydrogenase and sequences of nucleic acid coding the same; Document 23 discloses an amino acid sequence for pyruvate carboxylase and the sequence of nucleic acid coding the same; Documents 24-27 disclose amino acid sequences for phosphoenolpyruvate carboxylase and sequences of nucleic acid coding the same; Documents 28-30 disclose amino acid sequences for aconitase and sequences of nucleic acid coding the same; Documents 31 and 32 disclose amino acid sequences for isocitrate dehydrogenase and sequences of nucleic acid coding the same; Document 33 discloses an amino acid sequence for dihydrolipoamide dehydrogenase and the sequence of nucleic acid coding the same; Documents 34-35 disclose amino acid sequences for 2-oxoglutarate dehydrogenase and sequences of nucleic acid coding the same; Documents 36 and 37 disclose amino acid sequences for glutamate dehydrogenase and sequences of nucleic acids coding the same; and Documents 38 and 39 disclose amino acid sequences for citrate synthase and sequences of nucleic acid encoding the same.

Therefore, the inventions relating to acyl-CoA carboxylases set forth in Claims 2, 19 and 20, the inventions relating to Dtsr set forth in Claims 3, 4 and 21-24, the inventions relating to phosphofructokinase set forth in Claims 5, 25 and 26, the inventions relating to proteins capable of bestowing the ability to utilize sucrose set forth in Claims 6, 27 and 28, the inventions relating to proteins having a function contributing to

THIS PAGE BLANK (USPTO)

glutamate uptake set forth in Claims 7, 29 and 30, the inventions relating to pyruvate dehydrogenase set forth in Claims 8, 31 and 32, the inventions relating to pyruvate carboxylase set forth in Claims 9, 33 and 34, the inventions relating to phosphoenolpyruvate carboxylase set forth in Claims 10, 35 and 36, the inventions relating to aconitase set forth in Claims 11, 37 and 38, the inventions relating to isocitrate dehydrogenase set forth in Claims 12, 39 and 40, the inventions relating to dihydrolipoamide dehydrogenase set forth in Claims 13, 41 and 42, the inventions relating to 2-oxoglutarate dehydrogenase set forth in Claims 14, 43 and 44, the inventions relating to glutamate dehydrogenase set forth in Claims 15, 45 and 46 and the inventions relating to citrate synthase set forth in Claims 16, 47 and 48 could be conceived easily from the aforementioned documents.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

REC'D 12 OCT 2001

WIPO

PCT

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)

[PCT36条及びPCT規則70]

| | | | |
|---|----------------------------------|---|--|
| 出願人又は代理人 の書類記号 | B 6 9 1 S M O P 1 0 7 2 | 今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。 | |
| 国際出願番号 PCT/J P 0 0 / 0 6 9 1 3 | 国際出願日 (日.月.年) 0 4 . 1 0 . 0 0 | 優先日 (日.月.年) 0 4 . 1 0 . 9 9 | |
| 国際特許分類 (IPC) Int. Cl ⁷ C12N15/60, C12N15/54, C12N15/53, C12N15/31, C12N15/56, C12N9/88, C12N9/12, C12N9/04, C07K14/34, C12N9/26, C12P13/04 | | | |
| 出願人 (氏名又は名称) 味 の 素 株 式 会 社 | | | |

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。

2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 6 ページからなる。

- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で _____ ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

| | | | |
|--|-----------------------------------|-----|---------|
| 国際予備審査の請求書を受理した日 1 0 . 0 4 . 0 1 | 国際予備審査報告を作成した日 2 8 . 0 9 . 0 1 | | |
| 名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号 | 特許庁審査官 (権限のある職員) 上 條 肇 | 4 B | 9 4 5 3 |
| 電話番号 03-3581-1101 内線 3448 | | | |

様式PCT/IPEA/409 (表紙) (1998年7月)

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- | | | | |
|-------------------------------------|---------|--------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 _____ | ページ、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 _____ | ページ、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 _____ | ページ、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | PCT19条の規定に基づき補正されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 _____ | ページ/図、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 _____ | ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 _____ | ページ/図、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 _____ | ページ、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 _____ | ページ、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 _____ | ページ、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならない、本報告に添付する。)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

| | | | |
|----------------|-------|------|---|
| 新規性 (N) | 請求の範囲 | 1-49 | 有 |
| | 請求の範囲 | | 無 |
| 進歩性 (IS) | 請求の範囲 | | 有 |
| | 請求の範囲 | 1-49 | 無 |
| 産業上の利用可能性 (IA) | 請求の範囲 | 1-49 | 有 |
| | 請求の範囲 | | 無 |

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

- 文献1: JP 7-63383 B2 (12.07.95)
 文献2: JP 4-4887 A (09.01.92)
 文献3: K. TAKAI *et al.*, *ppc*, the gene for phosphoenolpyruvate carboxylase from an extremely thermophilic bacterium, *Rhodothermus obamensis*: Cloning, sequenceing and overexpression in *Escherichia coli*, Microbiology (1998), Vol. 144, No. 5, p. 1423-1434
 文献4: JP 5-56782 A (09.03.93)
 文献5: WO 92/18635 A1 (29.10.92)
 文献6: D. WERECKE *et al.*, Cloning and sequence analysis of the gene encoding isocitrate lyase from *Rhodococcus fascians*, Gene (1994), Vol. 145, No. 1, p. 109-114
 文献7: W. JAGER *et al.*, A *Corynebacterium glutamicum* gene encoding a two-domain protein similar to biotin carboxylases and biotin-carboxyl-carrier proteins, Arch. Microbiol (1996), Vol. 166, No. 2, p. 977-984
 文献8: S. DONADIO *et al.*, Erythromycin production in *Saccharopolyspora erythraea* does not require a functional propionyl-CoA carbocylase, Mol. Microbiol (1996), Vol. 19, p. 977-984
 文献9: WO 94/08016 A1 (14.04.94)
 文献10: WO 96/32484 A2 (17.10.96)
 文献11: E. KIMURA *et al.*, Molecular cloning of a novel gene, *dtsR*, which rescues the detergent sensitivity of a mutant derived from *Brevibacterium lactofermentum*, Biosci. Biotechnol. Biochem. (1996), Vol. 60, p. 1565-1570
 文献12: WO 95/23224 A1 (31.08.95)
 文献13: JP 10-234371 A (08.09.98)
 文献14: JP 7-121227 B2 (25.12.95)
 文献15: A. M. ALVES *et al.*, Characterization and phylogeny of the *pfp* gene of *Amycolatopsis methanolica* encoding P_{Pi}-dependent phosphofructokinase, J. Bacteriol. (1996), Vol. 178, p. 149-155
 文献16: A. M. C. R. ALVES *et al.*, Identification of ATP-dependent phosphofructokinase as a regulatory step in the glycolytic pathway of the actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2), Appl. Environ. Microbiol. (1997), Vol. 63, p. 951-956
 文献17: JP 8-196280 A (06.08.96)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

補充欄 (いずれかの欄の大きさが足りない 合に使用すること)

第 V 欄の続き

- 文献18: J P 5-244958 A (24. 09. 93)
文献19: W. KRONMYER *et al.*, Structure of the *gluABCD* cluster encoding the glutamate uptake system of *Corynebacterium glutamicum*, J. Bacteriol. (1995), Vol. 177, p. 1152-1158
文献20: C. ROLLIN *et al.*, ¹³C-NMR studies of *Corynebacterium melassecola* metabolic pathways, Eur. J. Biochem. (1995), Vol. 227, No. 1-2, p. 488-493
文献21: S. HEIN *et al.*, Biochemical and molecular characterization of the *Alcaligenes eutrophus* pyruvate dehydrogenase complex and identification of a new type of dihydrolipoamide dehydrogenase, J. Bacteriol. (1994), Vol. 176, p. 4394-4408
文献22: P. E. STEPHENS *et al.*, The pyruvate dehydrogenase complex of *Escherichia coli* K12. Nucleotide sequence encoding the pyruvate dehydrogenase component, Eur. J. Biochem. (1983), Vol. 133, p. 155-162
文献23: WO 99/18228 A2 (15. 04. 99)
文献24: J P 10-165180 A (23. 06. 98)
文献25: J P 2-291276 A (18. 04. 90)
文献26: J P 11-196887 A (27. 07. 99)
文献27: J P 8-66189 A (12. 03. 96)
文献28: M. P. RUKLISH *et al.*, The functioning of the tricarboxylic acid cycle in *Brevibacterium flavum* and *Micrococcus glutamicus*, MIKROBIOLOGIYA (1987), Vol. 56, No. 5, p. 759-763
文献29: J. M. MENGAUD *et al.*, The major iron-containing protein of *Legionella pneumophila* is an aconitase homologous with the human iron-responsive element-binding protein, J. Bacteriol. (1993), Vol. 175, p. 5666-5676
文献30: C. PRODROMOU *et al.*, The aconitase of *Escherichia coli*. Nucleotide sequence of the aconitase gene and amino acid sequence similarity with mitochondrial isopropylmalate isomerases, Eur. J. Biochem. (1992), Vol. 204, p. 599-609
文献31: B. J. EIKMANNNS *et al.*, Cloning, sequence analysis, expression, and inactivation of the *Corynebacterium glutamicum icd* gene encoding isocitrate dehydrogenase and biochemical characterization of the enzyme, J. Bacteriol. (1995), Vol. 177, p. 774-782
文献32: A. ISHII *et al.*, Genes encoding two isocitrate dehydrogenase isozymes of a psychrophilic bacterium, *Vibrio* sp. strain ABE-1, J. Bacteriol. (1993), Vol. 175, p. 6873-6880
文献33: B. J. EIKMANNNS *et al.*, *Corynebacterium glutamicum lpd* gene, complete CDS, Genbank (1999-Feb-01), Acc. No. Y16642
文献34: WO 97/48790 A1 (24. 12. 97)
文献35: WO 95/34672 A1 (21. 12. 95)
文献36: E. R. BOERMANN *et al.*, Molecular analysis of the *Corynebacterium glutamicum gdh* gene encoding glutamate dehydrogenase, Mol. Microbiol. (1992), Vol. 6, p. 317-326
文献37: J P 6-502548 A (24. 03. 94)
文献38: B. J. EIKMANNNS *et al.*, Nucleotide sequence, expression and transcriptional analysis of the *Corynebacterium glutamicum gltA* gene encoding citrate synthase, Microbiology (1994), Vol. 140, p. 1817-1828
文献39: M. A. PARDO *et al.*, Nodulating ability of *Rhizobium tropici* is conditioned by a plasmid-encoded citrate synthase, Mol. Microbiol. (1994), Vol. 11, p. 315-321

THIS PAGE BLANK (USPTO)

補充欄 (いずれかの欄の大きさが足りない場合に使用すること)

第 V 欄の続き

請求の範囲1-49

文献1, 2には耐熱性細菌コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスを用いてアミノ酸醗酵をする方法が記載されている。

文献1, 2には特定のアミノ酸配列を有するコリネバクテリウム・サーモアミノゲネス由来のアミノ酸合成に関与するイソシトレートリアーゼ及びそれをコードする核酸が記載されていない点で本願請求項1, 17, 18に記載の発明と相違する。

しかしながら、本出願前に工業用酵素として耐熱性のものが好ましいこと、及び耐熱性酵素を耐熱性細菌からクローニングしようとすることは周知の課題である。また、その手法として、他の近縁の細菌から目的のアミノ酸合成に関与する酵素の遺伝子の核酸配列を基とするプライマーを作成し、目的の耐熱性酵素をクローニングし酵素をコードする遺伝子の配列の決定を行うことは文献3に記載されている。

そして、近縁の細菌由来のイソシトレートリアーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献4～6に記載されており、プライマーの作成、クローニング作業についても当業者にとって予見不可能な程度の格別の困難性があつたとも認められないから、請求の範囲1, 17, 18に記載の発明は当業者が文献1～6より容易になし得るものである。

クローニングされた遺伝子を基に組み換え微生物を作成し、アミノ酸醗酵を行うことは本出願前の常套手段であるから請求の範囲49についても同様である。

得られた酵素が耐熱性を有することは由来となる微生物の特性から自明の範囲であり、格別のこととすることはできない。

また、アシルC o - Aカルボキシラーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献7～10に記載され、D t s rのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献11～13に記載され、ホスホフルクトキナーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献14～16に記載され、スクロース資化能を付与する活性を有する蛋白質のアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献17～18に記載され、グルタミン酸の取り込みに関与する機能を有する蛋白質のアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献19に記載され、ピルビン酸デヒドロゲナーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献20～22に記載され、ピルビン酸カルボキシラーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献23に記載され、ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献24～27に記載され、アコニターゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献28～30に記載され、イソクエン酸デヒドロゲナーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献31～32に記載され、ジヒドロリポアミドデヒドロゲナーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献33に記載され、2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献34～35に記載され、グルタミン酸デヒドロゲナーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献36～37に記載され、クエン酸シンターゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献38～39に記載されている。

よって、アシルC o - Aカルボキシラーゼに関する請求の範囲2, 19, 20に係る発明、D t s rに関する請求の範囲3, 4, 21-24に係る発明、ホスホフルクトキナーゼに関する請求の範囲5, 25, 26に係る発明、スクロース資化能を付与する活性を有する蛋白質に関する請求の範囲6, 27, 28に係る発明、グルタミン酸の取り込みに関与する機能を有する蛋白質に関する請求の範囲7, 29, 30に係る発明、ピルビン酸デヒドロゲナーゼに関する請求の範囲8, 31, 32に係る発明、ピルビン酸カルボキシラーゼに関する請求の範囲9, 33, 34に係る発明、ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼに関する請求の範囲10, 35, 36に係る発明、アコニターゼに関する請求の範囲11, 37, 38に係る発明、イソクエン酸デヒドロゲナーゼに関する請求の範囲12, 39, 40に係る発明、ジヒドロリポアミドデヒドロゲナーゼに関する請求の範囲13, 41, 42に係る発明、2-オキ

THIS PAGE BLANK (USPTO)

補充欄 (いずれかの欄の大きさが足りない場合に使用すること)

第 V . 欄の続き

ソグルタル酸デヒドロゲナーゼに関する請求の範囲14, 43, 44に係る発明、グルタミン酸デヒドロゲナーゼに関する請求の範囲15, 45, 46に係る発明、クエン酸シンターゼに関する請求の範囲16, 47, 48に係る発明のそれぞれについても、同様に上記各文献から容易になし得るものである。

THIS PAGE BLANK (USPTO)